



**UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA**

---

**IDENTIFICACIÓN Y COMPARACIÓN DE ENTEROBACTERIAS EN  
PACIENTES CON ENFERMEDAD PERIIMPLANTAR EN UNA POBLACIÓN  
BOGOTANA**

**Carlos Andrés Ramón Morales**

**Universidad Nacional de Colombia**

**Facultad de Odontología**

**Posgrado de Periodoncia**

**Bogotá, Colombia**

**2015**

**IDENTIFICACIÓN Y COMPARACIÓN DE ENTEROBACTERIAS EN  
PACIENTES CON ENFERMEDAD PERIIMPLANTAR EN UNA POBLACIÓN  
BOGOTANA**

**Carlos Andrés Ramón Morales**

Trabajo Final de Especialidad presentado como requisito para optar al título de:  
**Periodoncista**

**Directora:**

**Dra. María Claudia Castro Zárate**

Periodoncista, M.Sc. Microbiología

**Codirectora:**

**Dra. Maye Bernal Rivera**

Bacterióloga, M.Sc. Inmunología

**Universidad Nacional de Colombia**

**Facultad de Odontología**

**Posgrado de Periodoncia**

**Bogotá, Colombia**

**2015**

**Nota de aceptación:**

**Aprobado por el Comité de Grado en  
cumplimiento de los requisitos  
exigidos por la Universidad Nacional de  
Colombia, Facultad de Odontología,  
para optar al título de Periodoncista.**

---

**Jurado Docente**

---

**Jurado Docente**

**Bogotá D.C. Noviembre de 2015**

## **AGRADECIMIENTOS**

A Dios Todo Poderoso, quien hizo posible todo este proceso para lograr la consecución de un objetivo fundamental en mi proyecto de vida, formarme como Periodoncista.

A la Dra., María Claudia Castro y la Dra. Maye Bernal que hicieron parte fundamental de este proyecto y a partir de su experiencia en procesos investigativos aportaron conocimientos y brindaron acompañamiento constantemente a este ejercicio académico.

A todos mis docentes, gracias por su paciencia, apoyo, confianza y por todos los conocimientos que aportaron cada día a mi formación tanto profesional como personal durante estos dos años de estudio.

A la Unidad de Investigación en Proteómica y Miosis Humanas de la Pontificia Universidad Javeriana y en especial a la Dra. Claudia Parra y al Dr. Andrés Ceballos, quienes creyeron en este proyecto como un ejercicio serio de construcción de conocimiento en el área de Microbiología Periimplantar.

A los pacientes que participaron de manera voluntaria en el estudio, gracias por su tiempo, paciencia e interés porque sin ellos este trabajo hubiera sido imposible.

A amigos, compañeros y personal auxiliar que con su disposición apoyaron cada etapa de este trabajo investigativo.

A mi padre y hermano, graduados de Odontólogos de la Universidad Nacional de Colombia quienes con su ejemplo me enseñaron a amar y respetar esta hermosa profesión.



A mi madre, hermanas y a toda mi familia, quienes me han brindado siempre su amor y apoyo incondicional, que fueron fundamentales para formarme como Especialista en la mejor Universidad del País, La Universidad Nacional de Colombia.

## RESUMEN

**Objetivo:** El objetivo de este trabajo fue identificar la presencia de enterobacterias y su tipificación en muestras de placa subgingival de implantes y dientes adyacentes a implantes de pacientes parcial y completamente edéntulos residentes en Bogotá; con diagnóstico de Mucositis y Periimplantitis para posteriormente comparar los resultados.

**Materiales y Métodos:** Participaron 31 pacientes, con un total de 103 implantes de los cuales 91 implantes fueron diagnóstico con Mucositis y 12 diagnóstico de Periimplantitis. Tres pacientes de los 31 fueron edéntulos totales y tuvieron diagnóstico de Mucositis. No hubo pacientes edéntulos diagnosticados con Periimplantitis. Se tomaron muestras del fondo del surco con puntas de papel estériles, las cuales fueron sembradas en agar MacConkey e identificadas por medio de espectrometría de masas utilizando el sistema MALDI-TOF MS. Los tres microorganismos que se aislaron con mayor frecuencia en pacientes parcialmente edéntulos tanto en dientes como en implantes fueron *K. oxytoca*, *E. cloacae* y *E. cloacae complex*. Una paciente con Periimplantitis tuvo una muestra positiva para *Mycoplasma arginini* el cual no está reportado como asociado con enfermedad periodontal o periimplantar. En los pacientes edéntulos se aislaron *Acinetobacter iwoffii*, *Stenotrophomonas maltophilia* y *Enterobacter kobei*, los cuales están reportados como asociados a enfermedad periodontal y periimplantar. Una paciente con síndrome de Sjögren, la cual presentó diagnóstico de mucositis y un aislamiento de *Acinetobacter iwoffii* y *Stenotrophomonas maltophilia*. En conclusión, los microorganismos aislados están relacionados con enfermedad periimplantar y periodontal a excepción del *Mycoplasma arginini*. Al existir coincidencias en el aislamiento de enterobacterias en dientes e implantes se observa que los surcos periodontales pueden servir como reservorio de bacterias las cuales posteriormente pueden colonizar los tejidos

periimplantares. La flora oral en pacientes edéntulos puede resultar menos patológica que la que se presenta en pacientes parcialmente edéntuos, debido a los hallazgos en este estudio. Se recomienda realizar más investigaciones en el tema para lograr definir el papel de las enterobacterias en la enfermedad periimplantar.

Palabras Clave: Periimplantitis, bacilos entéricos, Microbiología, implantes dentales, biofilm.

## ABSTRACT

**Objective:** The objective of this study was to identify the presence and species of enterobacteria in samples of subgingival plaque from implants and adjacent teeth of edentulous and partially edentulous patients diagnosed with Periimplantitis to be compared with patients with a diagnosis of Mucositis in a Bogotan population.

**Materials and Methods:** 31 patients participate. A total of 103 implants were evaluated, which 91 had Mucositis diagnosis and 12 Periimplantitis diagnosis. 3 patients out of 31 were edentulous and had Mucositis diagnosis. There were edentulous patients diagnosed with Periimplantitis. Socket samples were taken with sterile paper points, which were grown on MacConkey agar and identified by mass spectrometry using the MALDI-TOF MS system. The three microorganisms were isolated most often in partially edentulous patients, in both teeth and implants were *K. oxytoca*, *E. cloacae* and *E. cloacae complex*. One patient with Periimplantitis diagnosis had a positive sample *Mycoplasma arginini* which is not reported as associated with periodontal or peri-implant disease. In edentulous patients *Acinetobacter iwoffii*, *Enterobacter Kobei* and *Stenotrophomonas maltophilia* were isolated, which are reported to be associated with periodontal and peri-implant disease. There was a patient with Sjögren's syndrome, which presented mucositis diagnosis and isolation of *Acinetobacter iwoffii* and *Stenotrophomonas maltophilia*.

In conclusion, the isolated microorganisms are related to peri-implant and periodontal disease except *Mycoplasma arginini*. As there coincidences in isolating enterobacteria teeth and implants shows that the periodontal pockets may serve as a reservoir of the bacteria which then colonize the peri-implants tissues. The oral flora in edentulous patients may be less morbid than occurs in patients partially edentulous due to the findings in this

study. it is recommended further research in the field to define the role of enterobacteria in the peri-implant disease.

Keywords: Peri-Implantitis, Enteric-Rods, microbiology, dental-implants, biofilm

## **CONTENIDO**

<b>1. INTRODUCCIÓN</b>	<b>15</b>
<b>2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA</b>	<b>17</b>
<b>3. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN</b>	<b>20</b>
<b>4. JUSTIFICACIÓN</b>	<b>21</b>
<b>5. OBJETIVOS</b>	<b>24</b>
<b>6. MARCO TEÓRICO</b>	<b>25</b>
<b>7. DISEÑO METODOLÓGICO</b>	<b>41</b>
<b>8. RESULTADOS</b>	<b>50</b>
<b>9. DISCUSION</b>	<b>78</b>
<b>10. CONCLUSIONES:</b>	<b>91</b>
<b>11. BIBLIOGRAFÍA</b>	<b>92</b>

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Evolución de los sistemas de identificación bacteriana (44)	36
Figura 2. Esquema para la identificación de bacterias por MALDI-TOFMS (48)	38
Figura 3. Esquema general para el análisis de MS de los aislamientos. (48)	40
Figura 4: Esquema de los grupos a comparar en el estudio.	42
Figura 5. Preparación de las puntas de papel para la toma de la muestra	44
Figura 6. Procedimiento para la toma de muestra	45
Figura 7. Pasos para la siembra de la muestra por agotamiento	47
Figura 8. Pasos para la realización de la coloración de Gram.	48
Figura 9. Escala de puntaje para la identificación en el sistema MALDI-TOF MS	49
Figura 10. Tres Agar MacConkey de Muestras de Pacientes que participaron en el estudio	57
Figura 11. Vista al microscopio de una de las placas a las que se les realizó tinción de Gram,	57

## LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Cantidad de pacientes por sexo	51
Tabla 2. Resultado de laboratorio por paciente	52
Tabla 3. Cantidad de paciente por grupo de edad	58
Tabla 4. Pacientes con enfermedad periimplantar	59
Table 5. Asociación de bacterias con diagnóstico	72
Tabla 6. Tabla de contingencia de resultados esperados	74
Tabla 7. Tabla de contingencia de cálculo de fórmula para Chi Cuadrado	75



## LISTA DE GRÁFICAS

Gráfica 1. Diagrama de flujo de pacientes incluidos	50
Gráfica 2. Porcentaje de pacientes por sexo	51
Gráfica 3. Cantidad de paciente por grupo de edad	58
Gráfica 4. Porcentaje de pacientes por grupo de edad	58
Gráfica 5. Pacientes con enfermedad periimplantar	59
Gráfica 6. Porcentaje de pacientes con enfermedad periimplantar	59
Gráfica 7. Distribución de número de implantes por paciente	60
Gráfica 8. Diagnóstico de enfermedad periimplantar por paciente	61
Gráfica 9. Distribución de enfermedad periimplantar en hombres y mujeres	62
Gráfica 10. Porcentaje de muestras positivas en implantes	62
Gráfica 11. Porcentaje de presencia de enterobacterias en las muestras positivas de implantes	63
Gráfica 12. Enterobacterias aisladas en muestras de 36 implantes con diagnóstico de mucositis que dieron resultado positivo	64
Gráfica 13. Muestra de 5 implantes con diagnóstico de periimplantitis que dieron resultado positivo para enterobacterias	65
Gráfica 14. Porcentaje de presencia de enterbacterias en implantes de paciente edéntulos totales.	66
Gráfica 15. Enterobacterias aisladas en muestras de pacientes edéntulos totales (P22, P23 y P31)	66
Gráfica 16. Frecuencia de enterobacterias por implante en cada paciente	67
Gráfica 17. Enfermedad periodontal según sexo	68
Gráfica 18. Distribución de enfermedad periodontal en hombres y mujeres	68
Gráfica 19. Porcentaje de muestras positivas para enterobacterias en dientes adyacentes a los implantes	69
Gráfica 20. Número de pacientes con enfermedad periodontal que tuvieron resultado negativos para enterobacterias	69
Gráfica 21. Enterobacterias identificadas en la muestra de dientes adyacentes a los implantes que tuvieron resultado positivo	70
Gráfica 22. Muestras para cada enterobacteria aislada en dientes adyacentes a los implantes con enfermedad periodontal	71

## **LISTA DE ANEXOS**

Anexo 1. Formato para la toma de muestras	103
Anexo 2. Consentimiento informado para la participación en el estudio	105
Anexo 3. Plegable informativo	107
Anexo 4. Periodontograma	109
Anexo 5. Carta de Aprobación del Comité de Ética	110
Anexo 6. Formatos de los pacientes que participaron en el estudio (Carpeta aparte)	

## 1. INTRODUCCIÓN

La enfermedad periimplantar ha tomado mucha importancia en los últimos años debido al aumento su incidencia, por el incremento en la demanda de tratamientos que involucran implantes dentales, y que aun no se tiene certeza sobre el tipo de tratamiento mas efectivo para esta patología. (1).

La enfermedad periodontal y la enfermedad periimplantar presentan similitud, ya que en ambos casos la asociación entre diferentes microorganismos se rige por los mismos parámetros biológicos, tanto en condiciones de salud como de enfermedad.(2,3). Ha sido reportada la similitud en la composición del biofilm alrededor de los implantes con el que se forma en los tejidos dentales(4,5) y por consiguiente muchas teorías han surgido alrededor de la enfermedad periimplantar y su etiología microbiana, dentro de las cuales se le ha intentado dar un papel a las bacterias entéricas, por su naturaleza oportunista; además porque se describe que pueden permanecer en los tejidos después de la terapia a manera de flora superinfectante , de tal manera que pudieran estar relacionadas con la progresión de la enfermedad periimplantar(6)

No hay publicación de estudios que determinen el papel de las enterobacterias en la Mucositis o Periimplantitis (7), sólo se conoce que la incidencia en enfermedad periodontal es mayor en países menos desarrollados y en poblaciones con un nivel socioeconómico bajo, o asociada a hábitos específicos personales y sociales. (8) Para Colombia se ha reportado una incidencia entre el 30 y el 40% en las diferentes regiones del país en poblaciones que presentan enfermedad periodontal (9)

En el desarrollo de este trabajo, se estudiaron pacientes de características heterogéneas respecto a edad, sexo y número de implantes, encontrando que todos los pacientes presentaron enfermedad periimplantar, pero no todos tuvieron enterobacterias asociadas. Se tomaron muestras bacteriológicas del surco de los dientes adyacentes a los implantes para poder establecer si los microorganismos encontrados en el tejido periodontal están relacionados con los que se pudieran aislar de el tejido periimplantar, teniendo en cuenta los reportes donde establecen que los dientes pueden actuar como una fuente importante de bacterias que pueden llegar a colonizar a los implantes (2,10,11), lo que resulta interesante para relacionar el papel de las enterobacterias en la enfermedad periimplantar..

Al comparar los resultados reportados para enfermedad periodontal y para Periimplantitis con los resultados obtenidos en este estudio, se puede aportar información importante para definir el papel que las enterobacterias puedan tener en la etiología de la enfermedad periimplantar

## **2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

La enfermedad periimplantar describe una agrupación de infecciones orales, resultado del eventual desequilibrio de la carga bacteriana y el sistema inmune del huésped en algunos de los implantes dentales colocados en la práctica clínica (1,3).

Según el European Workshop on Periodontology de 2010 (3), la Mucositis periimplantar es una inflamación en el tejido conectivo subyacente al epitelio de unión, en donde se puede observar infiltrado inflamatorio. Clínicamente se observan las características de un tejido inflamado, con sangrado al sondaje y edema en algunos casos, mientras que la Periimplantitis se caracteriza por un infiltrado inflamatorio que puede o no avanzar hasta el hueso periimplantar, lo que conlleva a la reabsorción del componente óseo que permite la función del implante, clínicamente se observan características de una inflamación crónica tales como aumento del sangrado y de la profundidad del sondaje (3). Radiográficamente se puede comparar el nivel óseo inicial con el que presente en el momento de sospecha de Periimplantitis, la imagen radiográfica se caracterizará por tener una forma de embudo estrecho (1,3,4,5). En ninguno de los casos se observa sintomatología dolorosa (4) También se ha definido la Mucositis periimplantar y la Periimplantitis como enfermedades análogas a la Gingivitis y a la Periodontitis respectivamente (12,13).

Ha sido reportado que la composición del biofilm alrededor del implante es similar a la de los dientes. Aunque las bacterias son similares, la colonización bacteriana en el implante es mas lenta (5,14). La microflora periimplantar en salud está compuesta por cocos y bacilos Gram positivos, no móviles. La Mucositis

periimplantar está relacionada con el aumento de cocos y bacilos móviles y espiroquetas mientras que la transición a Periimplantitis está dada por la colonización de Gram-negativos móviles y anaerobios, comúnmente encontrados en Periodontitis (5,9,14,15). A pesar de haberse visto que la presencia de biofilm en el surco periimplantar tiene repercusiones en la salud de los tejidos de soporte, aun resulta desconocido el papel de las bacterias en el progreso de las Mucositis y la Periimplantitis (8,16,17).

Se ha descrito la presencia de microorganismos en el surco, que no son periodontopatógenos usuales, como son las enterobacterias (5,7,15). Se ha reportado que estas bacterias tienen una presencia variable en enfermedad periodontal en diferentes poblaciones, que va desde un 0% en estudios realizados en Noruega (18), 14% en Estados Unidos (15), 31.2% en Brasil (17) 35.4% en Colombia (7,8), hasta un 92% en Sudán (18). La literatura ha descrito que los principales microorganismos entéricos presentes en enfermedad periodontal son *Enterobacter aerogenes*, *Enterobacter cloacae*, *Escherichia coli* y *Helicobacter pylori* (5). Así como lo describe Barbosa en un estudio en Brasil, la frecuencia de enterobacterias puede variar entre diferentes poblaciones de un mismo país(17). En Colombia, los estudios realizados en diferentes poblaciones reportan mayor frecuencia de aislamiento de los siguientes microorganismos, *Enterobacter cloacae*, *Enterobacter aerogenes*, *Klebsiella pneumoniae* y *Klebsiella oxitoca* (6,7,8,19,20). Según las conclusiones obtenidas en el trabajo de Lafourie y colaboradores en 2007 la presencia de estas enterobacterias pueden variar dependiendo de la región geográfica, (8). La presencia de enterobacterias ha sido asociada con los hábitos culturales, el lugar donde se vive, la alimentación, la calidad del agua así como la higiene personal (6,8,17).

Aun no es conocido el papel de las enterobacterias en la Periimplantitis y todavía no es claro si son colonizadoras o simplemente resultan siendo flora transitoria

debido a su presencia en otros sitios de la cavidad oral como la mucosa de revestimiento o incluso el dorso lingual(6). Se ha observado que son bacterias que permanecen en los tejidos periodontales afectados(14), incluso después de la terapia periodontal (6) y que este proceso de colonización puede darse por la microbiota que se encuentra en las bolsas residuales de los dientes vecinos, llevando a iniciar un proceso infeccioso que puede terminar en Periimplantitis (3,15). Botero et al. reportaron en 2005 una prevalencia de enterobacterias en el 38.07% en muestras tomadas de pacientes con Periimplantitis de una población en la ciudad de Cali (9).

Algunos autores han sugerido que las enterobacterias pueden estar relacionados con la progresión de la enfermedad periodontal (6,7,8,19,20). Teniendo en cuenta que la presencia de enterobacterias reportada para enfermedad periodontal en Colombia es de 34.5%, que varía dependiendo de la región, por ejemplo en Bogotá se observó una prevalencia del 13%, en Santander un 30%, similar a los datos encontrados en la región caribe con un 32% y en el departamento de Antioquia existió una prevalencia de microorganismos entéricos del 47%(8); que en enfermedad periimplantar lo reportado en poblaciones colombianas diferentes a la bogotana es de 38.07% (9) y que desafortunadamente las bacterias entéricas relacionadas con enfermedad periimplantar han recibido muy poca atención en la literatura (7) sumando que los reportes que existen son limitados, se hace pertinente la realización de este estudio en Bogotá con el fin de aportar información útil para establecer los microorganismos entéricos presentes en bolsas periimplantares de los pacientes en una población bogotana con diagnósticos de Mucositis y Periimplantitis y comparar su presencia con la reportada en la literatura para otras ciudades de Colombia.

### **3. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN**

¿Cuáles especies de enterobacterias se encuentran en los surcos de pacientes con diagnóstico de Mucositis periimplantar comparada con los de pacientes con Periimplantitis en una población bogotana?



#### **4. JUSTIFICACIÓN**

La cavidad oral es un ecosistema variable, el cual es colonizado constantemente por microorganismos, los cuales, en la mayoría de los casos forman parte de la microflora oral sin causar daño alguno. Estos microorganismos evolucionan dependiendo de los nutrientes proporcionados por el hospedero, así como la respuesta inmune que podría llegar a atacarlos (5). El nicho subgingival brinda un ambiente propicio para el crecimiento de las bacterias entéricas, debido a que presenta concentraciones de oxígeno bajas con un alto intercambio de nutrientes en el fluido crevicular, a esto se le suma el potencial de recambio del biofilm a medida que éste madura, lo que hace que las condiciones se vayan adaptando a las nuevas especies colonizadoras (16).

La colonización de las bacterias patógenas puede estar relacionada con su interacción con las bacterias comensales, donde se hace necesario reconocer el ambiente y cada microorganismo debe ser capaz de responder adecuadamente a los diferentes estímulos proporcionados tanto por otros microorganismos como por el mismo huésped. Por otro lado se ha descrito que las enterobacterias son bacterias que pueden permanecer incluso después de realizada la terapia periodontal, además de presentar resistencia a los antibióticos, lo que las coloca dentro de los microorganismos oportunistas y las han descrito como bacterias superinfectantes asociadas con la progresión de la enfermedad periodontal y la falla de la terapia periodontal (6).

Los factores de virulencia de estas bacterias les confieren la habilidad de adherirse a las superficies en el huésped y por consiguiente lograr la colonización de los tejidos, además de elaborar sustancias que pueden llegar a bloquear las respuesta inmune del huésped, afectar las células del hospedero, como los fibroblastos e incluso producir enzimas proteolíticas que pueden generar algún tipo de daño en los tejidos colonizados.(5,14,19). Aun conociendo los factores de

virulencia de las bacterias entéricas, su papel en la enfermedad periodontal y por consiguiente en la enfermedad periimplantar son pobremente descritos, sumando que éstas bacterias han sido aisladas no sólo en pacientes que presentan la enfermedad, sino también en pacientes sanos aunque en estos pacientes la presencia de enterobacterias es menor, lo que puede suponer un posible papel en el desarrollo de la enfermedad(19).

Los implantes dentales al ser desarrollados de manera artificial resultan favorables para la colonización bacteriana. Por otro lado, se han desarrollado implantes a los que se les ha realizado un tratamiento de superficie, lo cual ha llevado a generar rugosidades e incluso fisuras que sirven como protección de microorganismos ante las fuerzas que podrían interrumpir su adherencia a la superficie, siendo esta una posible explicación para la persistencia de las bacterias posterior a la terapia; llevando a una reaparición de la infección.(16)

Por varios años los estudios han intentado describir la relación que existe entre los diferentes microorganismos inusuales y el estado de la enfermedad. Estudios muestran que la presencia de estas bacterias puede variar de país a país (6,18,19); otros estudios han concluido que el número y el tipo de patógenos varía incluso en individuos del mismo país, en diferentes regiones y con diferentes resultados clínicos en la severidad de la enfermedad (7,8), lo que resulta de gran importancia, debido a que en los países con menor presencia de bacterias entéricas, se puede observar que la prevalencia de enfermedad periodontal es menor (6,7,8,18,19,20) lo que sustenta el interés para estudiar su implicación en la etiopatogenia de la enfermedad periodontal y periimplantar.

El estudio de la microflora subgingival en una población particular permite conocer su posible impacto en la enfermedad, debido a que el alto potencial patogénico de las enterobacterias podría representar una falla en el tratamiento (8,20). Aun no hay reporte de estudios realizados en una población bogotana donde se

establezca la presencia de enterobacterias en las enfermedades periimplantares, ni su comparación tanto en Mucositis y Periimplantitis. Al evaluar la presencia de enterobacterias en placa bacteriana de pacientes con enfermedad periimplantar en una población bogotana frente a lo reportado en otras poblaciones, se podrá proveer información crucial para el entendimiento del papel que pueden jugar las enterobacterias en la etiopatogenia de la enfermedad periimplantar.

## **5. OBJETIVOS**

### **5.1 General**

Identificar la presencia y especie de enterobacterias que se encuentran en muestras de placa subgingival en implantes y en dientes adyacentes de pacientes parcialmente edéntulos y edéntulos con diagnóstico de Periimplantitis comparándolos con pacientes con diagnóstico de Mucositis en una población bogotana.

### **5.2. Específicos**

- Establecer la presencia y especie de enterobacterias aisladas de placa bacteriana subgingival periimplantar en pacientes con diagnóstico de Periimplantitis, total y parcialmente edéntulos en una población bogotana.
- Establecer la presencia y especie de enterobacterias aisladas de placa bacteriana subgingival periimplantar en pacientes con diagnóstico de Mucositis total y parcialmente edéntulos en una población bogotana.
- Establecer la existencia y especie de enterobacterias en placa bacteriana subgingival de los dientes vecinos a los implantes diagnosticados con Mucositis Periimplantar y Periimplantitis en pacientes parcialmente edéntulos en una población bogotana..
- Comparar la cantidad y especie de Enterobacterias encontrados en los casos de pacientes con diagnóstico de Mucositis y Periimplantitis en pacientes total y parcialmente edéntulos.

## 6. MARCO TEÓRICO

Durante muchos años los seres humanos han intentado reemplazar los dientes perdidos con elementos de diferentes características y materiales, lo que fracasaba de manera temprana, dejando a su paso un gran escepticismo en la rehabilitación fija a largo plazo (21). En 1950 la implantología oral inicia, cuando Branemark tras estudios con aditamentos de titanio en huesos de conejo, se dio cuenta que era difícil retirarlos. Más adelante, se desarrolla un dispositivo denominado implante de titanio que logra un anclaje directo al hueso, naciendo así la oseointegración; la cual es definida por Branemark como el íntimo contacto del hueso y el implante. Shroeder en 1976 publicó el primer artículo de implantes dentales integrados, realizando pruebas técnicas de corte óseo descalcificado(22).

Los implantes dentales son dispositivos metálicos, fabricados predominantemente de titanio, y son posicionados de manera quirúrgica en el hueso maxilar o mandibular. Al ser fabricados de manera artificial los hace propensos a la colonización bacteriana y posterior formación del biofilm lo que puede desencadenar, de acuerdo al tejido afectado y al tiempo de evolución, Mucositis o Periimplantitis(5).

La colonización bacteriana en la superficie del implante puede causar inflamación local de la mucosa periimplantar, lo que clínicamente se vería como el margen eritematoso e inflamado que presenta hemorragia a estímulos como el cepillado o el sondaje suave. Cuando existen estos signos clínicos y al momento de realizar el sondaje no se evidencia pérdida de inserción, se denomina Mucositis periimplantar, la cual radiográficamente tampoco debe presentar signos de pérdida ósea alrededor del implante. Esta inflamación ha sido asociada con la Gingivitis, debido a sus similitudes en el proceso de su patogénesis así como de signos clínicos, además de ser consideradas como precursoras de procesos inflamatorios y patológicos de mayor severidad como lo son la Periodontitis y la

Periimplantitis. Ambas entidades, Gingivitis y Mucositis periimplantar, han sido descritas como causadas por el establecimiento de las bacterias alrededor del diente y del implante respectivamente (1,5,12,13).

En varios estudios, como lo menciona Lang en el año 2011(12) tanto en animales como en personas, se puede observar cómo la presencia de biofilm, especialmente después de tres meses, lleva a la aparición de los signos clínicos descritos, los cuales desaparecen una vez es retirado el componente bacteriano en el surco, lo que puede demostrar que son entidades reversibles, lo que indica la necesidad de una prevención y terapia temprana para la Mucositis periimplantar(1,3,12). Aunque este es el punto de partida, puede llegar a generarse un proceso inflamatorio mayor, llegando a la afectación del hueso que sostiene el implante lo que generaría Periimplantitis; se ha descrito que no es un proceso inmediato, sino que se requiere tiempo considerable sin tratamiento para que esto suceda como ocurre con el paso de la Gingivitis a Periodontitis(12,13).

Mombelli en el año 2013(4), describe en su artículo (basándose en 23 artículos), que la prevalencia de Periimplantitis está presente en el 20% de los pacientes, en un periodo entre 5 y 10 años desde la colocación del implante. La Periimplantitis está caracterizada por una lesión inflamatoria en los tejidos periimplantares, donde al momento de realizar el sondaje existe sangrado o supuración y lo más importante es que clínica y radiográficamente existe evidencia de pérdida ósea (3,4,13).

Aunque la Periodontitis y la Periimplantitis tienen características similares, se puede observar que tienen diferencias en sus tejidos, que puede influenciar la respuesta del huésped. Según lo describe Berglundh en el 2011(13), los estudios comparando ambas entidades son limitados, además, los modelos utilizados, como son las ligaduras subgingivales no son descritos como ideales, porque

pueden ser manipulados por el investigador y pueden dar un sesgo debido a la colocación arbitraria de las mismas, lo que lleva a la alteración en la formación del biofilm alrededor del implante y el diente, pero aún así se observa que los tejidos que presentaron biofilm, se encontraban inflamados. En otros estudios realizados y descritos, se observaba en el tiempo la posible progresión de Mucositis a Periimplantitis usando diferentes modelos en animales, como perros, monos y e incluso ratones, llegando a la conclusión que el progreso no es inmediato, sino que puede durar años mientras se hace evidente el progreso a Periimplantitis(13).

El estudio de la Periimplantitis en humanos es limitado debido a la imposibilidad de tomar muestras de cadáveres humanos sometidos a modelos de experimentación, pero según las comparaciones realizadas por algunos autores, descritas en el Séptimo Workshop Europeo de Periodontología (3), en biopsias tomadas en sitios con Periodontitis y comparándolas con Periimplantitis en humanos, además, de ser sitios con invasión bacteriana, se puede observar que la Periimplantitis tiene una evolución más rápida que la Periodontitis, porque presenta un infiltrado inflamatorio en gran cantidad y con una distribución más amplia, lo que demuestra su mayor agresividad(1,3,13). Lo anterior permite llegar a la conclusión que la placa bacteriana no controlada es la principal implicada en el desarrollo de la Periimplantitis llevando a la reducción progresiva del hueso que rodea el implante hasta llegar a la pérdida completa e irreversible del implante dental (4,5,13).

El estudio de la microbiología clásica ha sido basado en la investigación de las propiedades de las bacterias aisladas y que crecen bajo condiciones de laboratorio, las cuales no representan el hábitat natural de los microorganismos. En la realidad, las bacterias viven en comunidades mixtas en condiciones especiales, las cuales se encuentran adheridas a las diferentes superficies en el ambiente y esto es a lo que se llama biofilm. Según lo describe el artículo de

Mombelli y Décaillet en 2011(15), la primera aproximación que hubo a la microbiología periimplatantaria fue desarrollada por Rams en el año de 1984, donde se observaron diferentes tipos de bacterias en altas proporciones, principalmente espiroquetas en muestras de implantes con evidencia de lesión periimplante (15).

La cavidad oral es un ecosistema dinámico, constantemente colonizado por microorganismos que son llamados la flora oral, los cuales se adaptan a las condiciones del hospedero además de lograr evadir el ataque de su sistema inmune (5). Las enfermedades periimplantares son el resultado de un desequilibrio entre la carga bacteriana y la defensa del hospedero. En los lugares con infecciones en los tejidos periimplantares, se pueden encontrar bacterias como las especies del complejo rojo *Tannerella forsythia*, *Treponema denticola* y *Porphyromonas gingivalis*; del complejo naranja *Prevotella intermedia*, *Prevotella nigrescens* y *Fusobacterium nucleatum* y del complejo amarillo *Campylobacter rectus* y el *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, descritos para enfermedad periodontal por Socransky y Haffajee en 1998 (23).

Las cepas de, *A. actinomycetemcomitans*, *C. rectus*, *F. nucleatum*, *P. intermedia*, *P. gingivalis* y *T. forsythia* se han descrito como los microorganismos encontrados con mayor frecuencia en las lesiones de Periimplantitis.(5,14,15,16). *Porphyromonas gingivalis* y *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* en el estudio de Mombelli y Décaillet en 2011 (15), no tuvieron una presencia constante en las lesiones de Periimplantitis esto concuerda con la conclusión dada por Lafaurie et al en 2007 donde afirma que la microbiota puede variar dependiendo de la región geográfica (8). El reporte de diferentes estudios ha podido establecer la presencia de alguno de éstos microorganismos en tejidos periodontales sanos, como el *F. nucleatum*, la *P. intermedia* y el *C. rectum* siendo definidos como patógenos putativos de la Periodontitis. (8,20) En Colombia se han descrito *Porphyromonas*



*gingivalis*, *Tanerella forsythia* y *Campylobacter rectus* como los periodonto patógenos mas prevalentes (8), presentándose el *C. rectus* también con una alta frecuencia en tejidos sanos, lo que puede definirlo como parte de la flora normal mientras no esté asociado con bacterias de mayor patogenicidad(20).

Se ha descrito que la colonización puede iniciar sobre las irregularidades de la superficie del implante como grietas o ranuras, donde las bacterias se encuentran a salvo de las fuerzas de desestabilización lo que les permite una mayor adhesión, supervivencia y pueden de ahí proliferar y colonizar el resto de la superficie del implante (16). Aún no está claramente definido la relación entre la superficie del implante y la microbiota(24).

Por otra parte, no se puede dejar a un lado los materiales de restauración, los cuales están también involucrados en la formación de biofilm oral y dependen de las micro rugosidades, hendiduras y micro fracturas en el mismo, lo que llevará a que, como ocurre en los implantes, sirvan como reservorio de las diferentes especies involucradas. Se ha descrito que el Polimentil Metacrilato es uno de los materiales que es ampliamente utilizado en los tratamientos restaurativos. Fue desarrollado en 1928 por la compañía Rohm y Haas, quien lo sacó al mercado en 1933 y en 1946 el 98% de las prótesis dentales estaban hechas de este material, y desde entonces se ha venido utilizando ampliamente en los tratamientos de rehabilitación oral. Se describe que el principal colonizador del Metil Metacrilato es el *Streptococcus oralis*. (25)

En materiales metálicos, debido a la transferencia de electrones se genera una fuerza de atracción electrostática, lo que puede llevar a un proceso de colonización más estable que en otros materiales, lo que también puede contribuir a la colonización y posterior formación del biofilm oral. En estudios reportados por Busscher en el 2010 (37), se ha descrito que en las primeras horas de

colonización bacteriana sobre superficies metálicas se encuentran principalmente estreptococos siendo el más común el *El Streptococcus mitis* y *Streptococcus oralis* se encuentran descritos dentro de los colonizadores primarios en el complejo amarillo según Socransky y Haffajee en el año 1998(23).

Los materiales utilizados con mayor frecuencia en la fabricación de los abutment para la rehabilitación son el Zirconio y el Titanio. Se ha observado que el Zirconio tiene menor rugosidad que el titanio, lo que lleva a que la colonización bacteriana sea menor en este material. Por otro lado, se ha propuesto la utilización de Polietereftercetona (PEEK por sus siglas en Inglés), el cual ha mostrado buenos resultados inicialmente para la provisionalización y actualmente se propone su uso en restauraciones definitivas. En una investigación realizada por el departamento de Odontología Protésica de la Universidad de Regensburg en Alemania, se realizó un estudio piloto donde se llevó a cabo la comparación entre cuatro materiales, el Zirconio, el Titanio, la Polietereftercetona (PEEK), y el Metil Metacrilato, observando que la PEEK presenta la menor rugosidad, seguida por el Zirconio, el Titanio y por último el Metil Metacrilato. En consecuencia, hubo menor colonización en la PEEK que en los demás materiales, llevando a proponer la Polietereftercetona como material para restauraciones definitivas, pero hace énfasis en la necesidad de estudios posteriores que se sustenten estos resultados. (26).

Para mantener el éxito de los implantes dentales durante el tiempo, se hace necesario un plan de mantenimiento constante, que ayude a bajar la carga bacteriana. Estudios como el de Salvi y Colaboradores en el 2012 (27) demuestran que durante los primeros días de invasión bacteriana, los tejidos blandos alrededor de los implantes desarrollaron una respuesta inflamatoria fuerte a la acumulación de placa experimental cuando se compara con la de sus homólogos gingivales, lo que confirmó una relación de causa y efecto entre la

formación de biopelículas y la Gingivitis, así como entre la formación de biopelículas y Mucositis periimplante.

La gingivitis y la mucositis periimplante experimentales fueron reversibles en el nivel de biomarcadores. Sin embargo, clínicamente después de 3 semanas de retomar el control de placa, el estado de la encía y la salud de la mucosa periimplante no retornaron a sus valores iniciales previos al estudio, lo que indica que se necesitan períodos más largos de eliminación de la carga bacteriana para devolver la salud periodontal y periimplantar. (27)

Recientemente, se han descrito microorganismos presentes en Periodontitis y Periimplantitis los cuales pueden estar involucrados en la destrucción de los tejidos(28). Se ha reportado la presencia de especies bacterianas en enfermedad periimplantar que no están comúnmente relacionadas con enfermedad periodontal y estos son los bacilos gram-negativos entéricos, los cuales son residentes naturales del tracto gastrointestinal donde son considerados microflora normal(29,30,31). Se ha descrito que por su resistencia a la mayoría de antibióticos usados para el tratamiento de la enfermedad periodontal, pueden ser bacterias oportunistas en una gran cantidad de infecciones humanas, y se han podido aislar en el ambiente subgingival(7).

Las enterobacterias constituyen la familia Enterobacteriaceae que comprende bacilos gram-negativos anaerobios y aerobios facultativos, donde podemos encontrar *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Escherichia*, *Klebsiella*, *Morganella*, *Salmonella*, Y *Shigella* (32), las cuales se caracterizan por que no forman esporas, pueden vivir en ausencia o presencia de oxígeno, son oxidasa negativos y pueden o no ser móviles (29). La presencia de las bacterias entéricas está relacionada con los hábitos, la alimentación, aguas no tratadas, mala higiene

general, así como el uso indiscriminado de antimicrobianos. En la cavidad oral se puede aislar en diferentes sitios como la mucosa oral, la mucosa lingual y el fondo del surco en pacientes con casos de Periodontitis severa. Su presencia en el fondo del surco puede llevar a la exacerbación del cuadro clínico de la Periodontitis y la Periimplantitis. (29, 30, 31).

Dentro de sus factores de virulencia también se encuentra el lipopolisacárido o LPS, el cual constituye la membrana externa de la célula y está formado exteriormente por el antígeno O, el cual tiene la función de dar la identificación serotípica de la célula, una porción intermedia que es un oligosacárido formado principalmente por glucosa, galactosa y N-acetilglucosamina; y una porción interna por el lípido A el cual se encuentra en contacto con la membrana externa y es conocido como el componente del lipopolisacárido encargado de la activación del sistema inmune impulsando la expresión de moléculas de adhesión por parte de las células del endotelio, activando por medio del TLR-4 la cadena del NF-kB, promoviendo así la producción de citoquinas proinflamatorias como es el caso de las IL-6. El Lipopolisacárido es reconocido como la principal endotoxina de las bacterias el cual se libera en el caso que exista una muerte celular(31,33,34).

Las Vesículas de Membrana Externa o OMV por su sigla en inglés, son estructuras formadas por la membrana externa de las células Gram-negativas. Las OMV fueron descritas ya hace aproximadamente 40 años y apenas hace una década han captado la atención de los científicos debido a su posible papel en la patogenia de muchas infecciones. Se ha descrito en la literatura que son formadas de manera constitutiva durante toda la vida de la célula. Dentro del contenido de las OMV se encuentran proteínas, fragmentos de antígenos y sustancias pertenecientes al citoplasma. Se cree que sus funciones están relacionadas con la comunicación celular, el intercambio de ADN y la secreción de toxinas, pero su papel en la infección no se conoce con claridad. Por otro lado, al contener

fragmentos de LPS en su interior, favorece la activación de la vía del NF- $\kappa$ B por medio de su unión al TLR-4; esta unión activa la producción de citoquinas proinflamatorias; además, activa las células endoteliales y éstas expresan moléculas de adhesión como el VCAM 1 y la selectina E, lo que lleva a un reclutamiento de leucocitos activados, llevando a la aparición de edema y congestión local, que al volverse crónico puede conducir a un daño orgánico(32,35). Aparte de tener un papel definitivo en la infección e inflamación, las OMV también pueden llegar a lisar o afectar las bacterias que no sean similares. La célula la puede usar como medio para secretar enzimas en el espacio periplásmico, llevando a la lisis de la membrana externa y posterior muerte de la célula adyacente. No sólo actúan contra otras células Gram-negativas, sino que pueden secretar peptidoglican-hidrolazas las cuales migran por la Capa-S de las Gram-positivas hasta la membrana subyacente llevando a la lisis celular (32).

Por otro lado, gran cantidad de bacterias, entre esas las enterobacterias, presentan largas prolongaciones formadas por proteínas llamadas fimbrias, las cuales pueden interactuar con variedad de receptores de las células del huésped principalmente la manosa, promoviendo así una adhesión que facilitará la colonización posterior (36). La principal, es la fimbria tipo 1, la cual está formada moléculas de entre 14 y 29 KDa, conocidas como FimA, FimF, FimG y FimH, formando una estructura helicoidal entorchada a la derecha, de 1 $\mu$ m de largo por 7nm de ancho aproximadamente. Se ha descrito que entre las moléculas formadoras de la fimbria 1, la FimH brinda estabilidad estructural a la fimbria y además por si sola es la molécula de adhesión específica a la manosa. La capacidad de adhesión de las enterobacterias se ha descrito como un mecanismo exitoso de invasión y colonización, el cual cumple un papel importante en la patogénesis de las infecciones causadas por enterobacterias. (36,37).

El hierro forma parte de los mecanismos naturales de los mamíferos, siendo el más importante en el proceso de captación de oxígeno en la hemoglobina. Las concentraciones de hierro en los mamíferos son bajas, de tal manera que se convierte en un elemento preciado. La captación de hierro por parte de las bacterias está descrita en diferentes modelos, como el de la *Escherichia coli*, en el cual se ha evidenciado que el proceso de captación de hierro está determinado por la utilización de enzimas que degradan las proteínas del huésped, permitiendo así su liberación para ser internalizado y utilizado por la bacteria, es así, que se ha definido como un mecanismo de virulencia, debido a que el hierro tiene un papel importante en los mecanismos de decodificación genética que darán lugar a los sistemas de adherencia y otros factores de virulencia de las bacterias. (36,38).

Aun conociendo los factores de virulencia asociados a las bacterias entéricas, su papel en el desarrollo de la enfermedad periodontal y periimplantar es desconocido. Se han descrito como potenciales superinfectantes, asociados con la progresión de la enfermedad (6,19). Por otro lado, teniendo en cuenta que se han descrito tanto en pacientes sanos como en pacientes con diferentes grados de severidad de enfermedad periodontal, lo que las coloca como probables bacterias comensales, conociendo el término como una relación definida entre dos organismos de especies diferentes, donde uno se beneficia sin afectar o herir al otro organismo(39). Se ha observado que las bacterias comensales detienen la activación del sistema inmune mediante la generación de mecanismos de tolerancia, los cuales incluyen citoquinas inhibitorias, como TGF- $\beta$  o IL-10, encargadas de regular la respuesta inmune. (40) Estos mecanismos se ven con frecuencia en las enterobacterias, quienes regulan a la baja las reacciones desencadenadas por la activación de la células dendríticas, llevando a generar una aceptación por parte del sistema inmune, la cual se ve definida por la diferenciación que se puede tener del lipopolisacárido “bueno” y el “malo” determinado por el número y organización de las moléculas que lo componen,

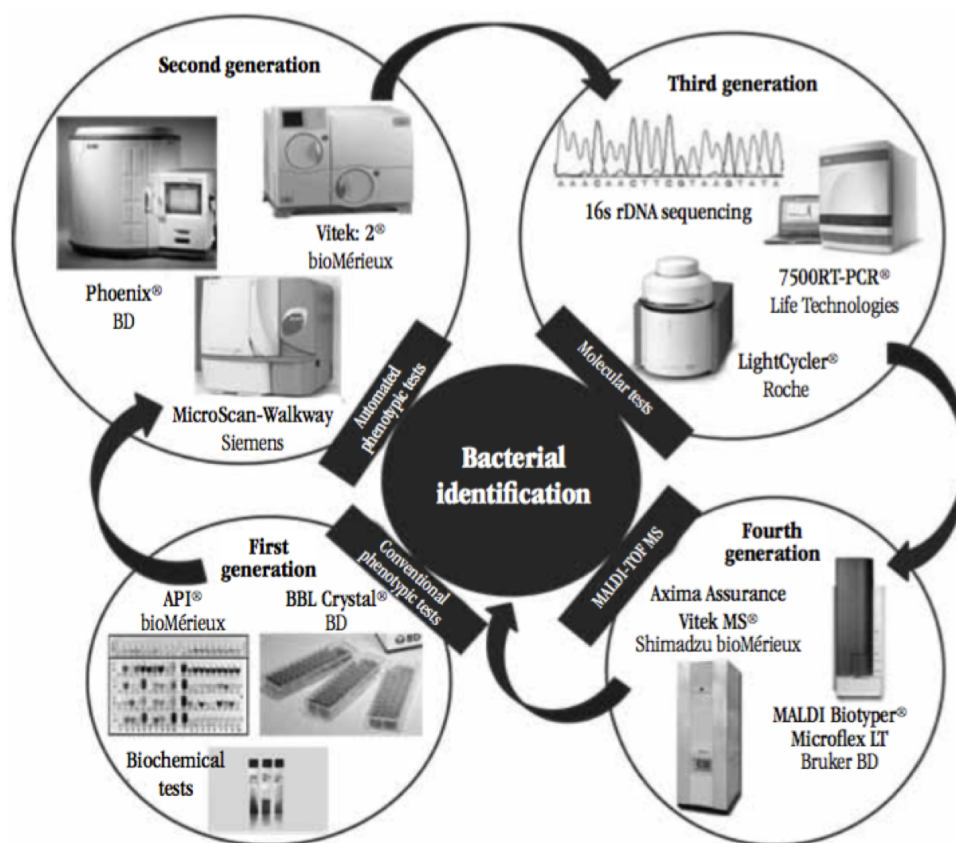
como se ve en el caso de la especie *Salmonella* que puede cambiar la organización de sus ácidos grasos para alterar así la respuesta del huésped. (39,40).

Los biofilms se pueden formar en las superficies dentales o implantares, causando la inflamación y la subsecuente destrucción de los tejidos circundantes. Los sitios de acumulación y reserva de los microorganismos que permiten la contaminación del implante incluyen los dientes adyacentes, las bolsas periodontales, la saliva e incluso la mucosa oral. La microflora periimplantar parece no ser una microflora específica, porque guarda similitudes con la encontrada en enfermedad periodontal, con excepción de la ocurrencia de bacterias no periodontopatógenas, como las enterobacterias (5,6,19). El conocimiento actual que se tiene sobre la Periodontitis y la Periimplantitis sirve como un punto de partida para analizarlas en conjunto y empezar a encontrar diferencias que puedan generar un mejor conocimiento, para encaminar de una mejor manera tratamientos exitosos (5).

La identificación de microorganismos se ha llevado a cabo mediante pruebas fenotípicas como la identificación macroscópica de las colonias, tinciones y pruebas bioquímicas, las cuales se hacían de manera manual, lo que tomaba gran tiempo. La automatización de las pruebas apareció como un gran avance, permitiendo realizar las pruebas en menor tiempo y con mejores resultados, sin embargo, aún se requieren procedimientos previos, como la siembra y posterior incubación, lo que toma horas o incluso algunos días(43).

Las pruebas han evolucionado durante el tiempo. La primera generación donde se encuentran las pruebas fenotípicas convencionales manuales, las cuales son las pruebas bioquímicas como el API® de BioMerieux, que tuvieron su auge, pero debido a la baja especificidad y la sensibilidad de la técnica puede llevar a generar errores en la identificación sumado a su alto costo, están llevando a estas pruebas

a entrar en desuso. En la segunda generación se encuentran las pruebas fenotípicas automatizadas, la tercera generación está conformada por las pruebas de PCR utilizando genes conservados de la porción 16s del ribosoma, siendo de alta confianza, pero aún se requieren procedimientos previos, como la extracción los ácidos nucleicos de las bacterias aisladas lo que aumenta el tiempo de la identificación, en promedio de 24 a 36 horas. Actualmente, existe la cuarta generación, donde se realiza una identificación por espectrometría de masas, que resulta mucho más rápida y acertada, la cual es realizada por el MALDI-TOF MS (matrix assisted laser desorption/ionization-time of flight mass spectrometry) (figura 1) (43,44,45).



**FIGURA 1. EVOLUCIÓN DE LOS SISTEMAS DE IDENTIFICACIÓN BACTERIANA (44)**



La tecnología MALDI-TOF-MS está siendo aplicada a la identificación de microorganismos y ha surgido en los laboratorios como una herramienta de diagnóstico en todo el mundo debido a la precisión de la técnica; se compara favorablemente con la secuenciación genómica y se obtiene un costo significativamente menor a esta última, lo que ha permitido la utilización de la espectrometría de masas en la identificación bacteriana de rutina, mediante el análisis de las proteínas, principalmente ribosomales tomadas directamente de colonias. El espectro de masas generado por la máquina es específico para cada especie y es comparado con una biblioteca de gráficas que se ha venido eriqueciendo con el tiempo.(43,44,46,47)

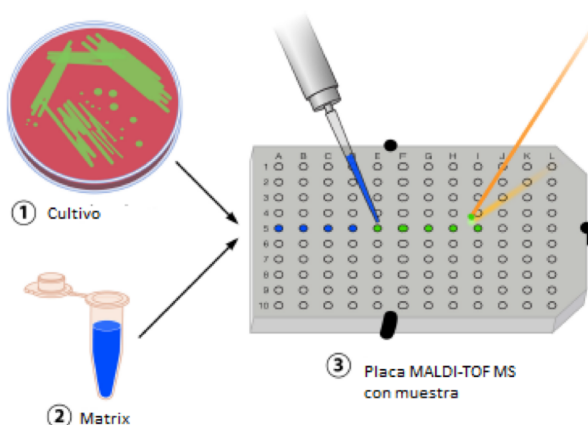
El primer informe de espectrometría de masas (MS) para caracterizar bacterias fue descrito en 1975 por Anhalt y Fenselau, quienes realizaron el análisis de pequeñas moléculas derivadas de bacterias liofilizadas y fueron capaces de diferenciar taxonómicamente los distintos microorganismos. Pero hasta finales de la década de 1990, se fue encontrando la aplicación del método a células bacterianas enteras para producir espectros característicos y reproducibles que podría ser útil para la identificación de género y especie, por lo que fue galardonado con un premio Nobel compartido en el año 2002. Sólo hasta hace poco tiempo se están comercializando y MALDI-TOF-MS entra en uso más generalizado, lo que se evidencia por el número mayor de publicaciones que describe el uso de este método para identificar aislamientos clínicos de microorganismos.(43,44,45)

La Espectrometría de Masas (MS) es un método que puede ser de gran ayuda para el diagnóstico microbiológico. Además, ha sido ampliamente utilizado como una herramienta de investigación, principalmente en proteómica y análisis de lípidos. Varias técnicas basadas en la ionización y la subsiguiente detección

biomolecular son métodos rápidos para identificación de bacterias y hongos, con gran precisión y bajos costos de operación.(43,44)

Colonias frescas (<24h) se seleccionan preferentemente para la realización de identificación bacteriana por MALDI-TOF MS. Sin embargo, también se puede lograr usando colonias mayores almacenados en aire ambiente. La identificación puede llevarse a cabo directamente de las colonias bacterianas o después de la extracción de proteína total de la muestra. Después, la placa se coloca en el equipo MALDI-TOF MS para su análisis.(43,44)

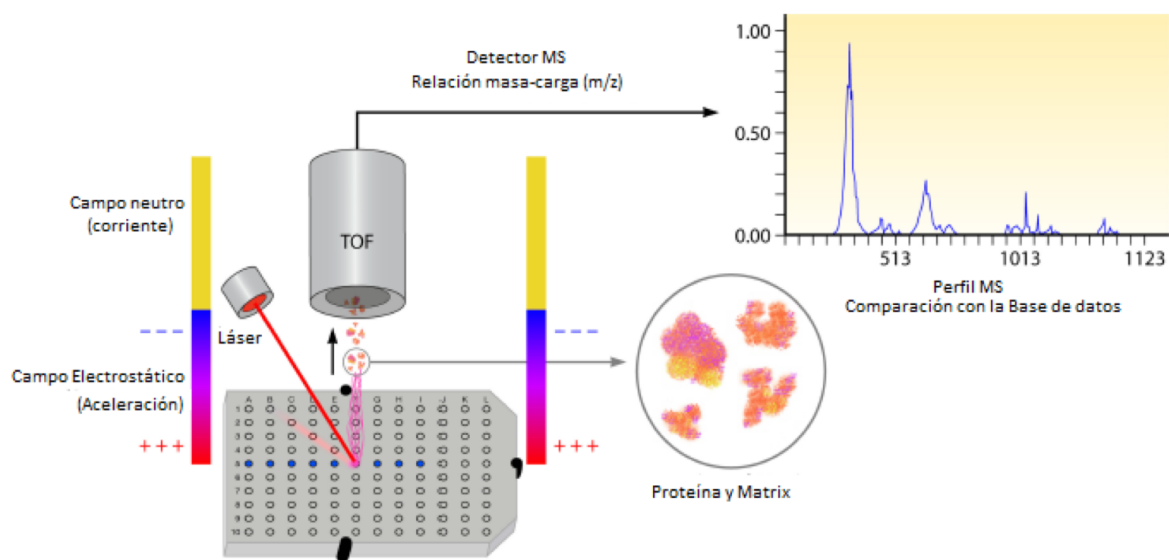
El principio básico de la tecnología MALDI-TOF-MS consiste en un mecanismo de ionización, con una solución saturada de un compuesto orgánico de baja masa, llamada matrix, que es esencial para el éxito de la ionización de la muestra clínica, debido a que se cristaliza y genera la lisis de microorganismos vegetativos. Esta cristalización de la muestra, ahora presente en la superficie de la placa de metal, se irradia mediante el uso de un rayo láser UV (un rayo láser N2 con una longitud de onda de 337nm); la irradiación se produce durante un corto tiempo para evitar daños o degradación de la muestra incrustada con la matrix que podría ser causada por el exceso de calentamiento (Fig. 2) (43,44,48).



**FIGURA 2. ESQUEMA PARA LA IDENTIFICACIÓN DE BACTERIAS POR MALDI-TOFMS (48)**

El haz del láser se enfoca en un pequeño punto en la superficie de la muestra cristalina (típicamente, de 0,05 a 0,2 mm de diámetro), y un atenuador de haz (conjunto de rayos luminosos de un mismo origen) se emplea en la óptica láser para ajustar la irradiación. La interacción entre dos fotones de láser, generan la absorción de la energía del haz desencadenando una sublimación de la matrix en un estado gaseoso; una vez ionizado, las proteínas dentro de la muestra clínica se analizan por un componente del espectrómetro de masas llamado Analizador de Masas para revelar la información característica acerca de la composición de la muestra y la cantidad de tiempo que cada partícula necesita para alcanzar el analizador, depende de la relación entre su masa y carga ( $m/z$ ). Las relaciones  $m/z$  son mediciones electrodinámicas que originan el movimiento de los iones cargados desde la muestra clínica a través del tiempo de vuelo (TOF) y llega a un tubo detector (43, 44, 47, 48).

Después de que todas las proteínas abundantes en la muestra se han detectado por el espectrómetro de masas, una huella espectral se produce, que es único para el microorganismo que se analiza; los estudios han demostrado que las proteínas predominantes detectados por MALDI-TOF-MS son proteína ribosomales, aunque otras proteínas citosólicas altamente abundantes también se detectan y la identificación del microorganismo que se prueba es entonces determinado automáticamente usando el software Biotyper, el cual es una plataforma abierta que permite al usuario comparar contra la biblioteca de espectros principal codificada o crear espectros principales con ayuda del mismo, para aumentar la base de datos con las entradas derivadas de microorganismos aislados en el laboratorio (figura 3) (48).



**FIGURA 3. ESQUEMA GENERAL PARA EL ANÁLISIS DE MS DE LOS AISLAMIENTOS. (48)**

## 7. DISEÑO METODOLÓGICO

**Tipo de Estudio:** Estudio de tipo transversal analítico

**Población:** 31 Pacientes procedentes de la ciudad de Bogotá que han recibido tratamiento con implantes dentales y asisten a consulta en las clínicas del Posgrado de Periodoncia de la Universidad Nacional de Colombia, previo consentimiento de participación y metodología aprobada por el comité de Ética de la Facultad de Odontología de Universidad Nacional de Colombia. Se tomaron como pacientes parcialmente edéntulos a quienes hayan perdido al menos un diente sin importar que haya sido remplazado con un implante. Los pacientes edéntulos fueron aquellos que no presentaron dientes naturales en su boca.

**Muestra:** El grupo muestral estuvo conformado por muestras del sitio del implante y en pacientes parcialmente edéntulos se tomaron muestras del surco de dos dientes adyacentes, tomando en cuenta que los diente adyacente son los más cercano a los implantes y pueden estar ubicados en la arcada opuesta.

**Conformación de grupos:** Los individuos se dividieron en dos grupos:

**Grupo A:** Pacientes diagnosticados con Periimplantitis

A1: Paciente con Dientes Adyacentes a los Implantes

A2: Paciente Totalmente Edéntulo

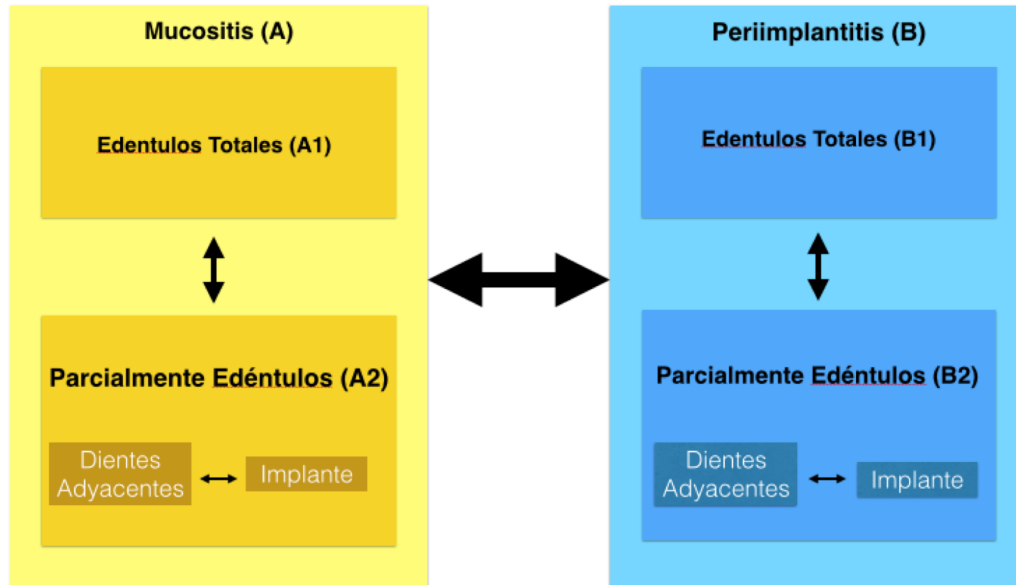
**Grupo B:** Pacientes diagnosticados con Mucositis periimplantar

B1: Paciente con Dientes Adyacentes a los Implantes

B2: Paciente Totalmente Edéntulo

Se compararon dentro de cada grupo los resultados obtenidos para cada

subgrupo, y posteriormente los dos grupos fueron comparados entre sí como lo muestra la figura 4, para realizar así el análisis de los resultados.



**FIGURA 4: ESQUEMA DE LOS GRUPOS A COMPARAR EN EL ESTUDIO.**

#### **Criterios de Inclusión:**

- Pacientes con diagnóstico de Mucositis periimplantar o Periimplantitis con al menos un implante en boca
- Pacientes sin tratamiento periodontal o periimplantar realizado en los 3 meses anteriores al estudio
- Pacientes que firmen el consentimiento informado

#### **Criterios de Exclusión:**

- Pacientes cuyos implantes tuvieron menos de tres meses de haber sido colocados. .
- Pacientes que recibieron tratamiento antibiótico en los últimos 3 meses

## **Materiales y Métodos:**

### **Recolección de Datos:**

Los datos personales fueron obtenidos directamente del paciente, es decir, de una fuente primaria, por medio de la entrevista que se le realizó para conocer su estado de salud y en la cual se resolvieron las preguntas relacionadas con el estudio, la entrega del folleto informativo y la firma del consentimiento informado (Anexo 1). Los datos requeridos para la realización del estudio, tanto información personal como hallazgos clínicos, serán diligenciados en el anexo correspondiente, donde estarán debidamente consignados para su posterior análisis.

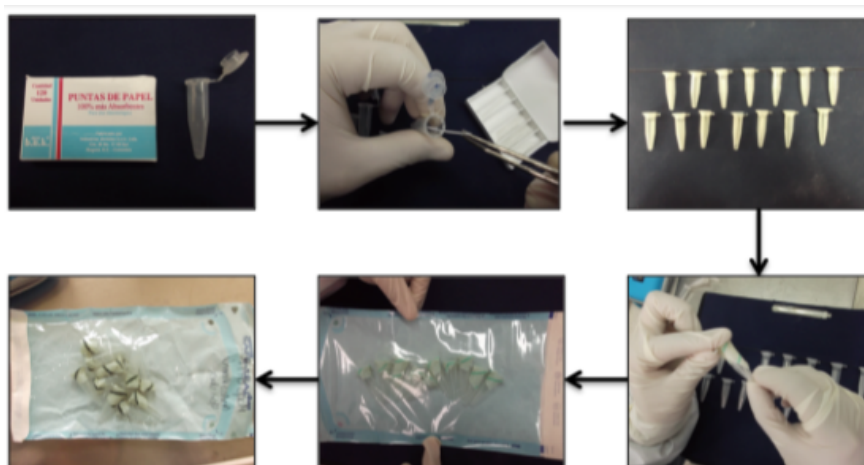
### **Examen Clínico:**

Todos los pacientes participaron de manera voluntaria. Antes de iniciar el procedimiento de toma de muestra se les realizó la entrevista personal para conocer sus antecedentes médicos y posteriormente firmaron el consentimiento informado (Anexo 2). Se les entregó cartilla de instrucción (Anexo 3) y se resolvieron las dudas e inquietudes de cada paciente. A todos los pacientes se les realizó recuento de placa bacteriana de O'Leary. En los pacientes parcialmente edéntulos todos los dientes fueron sometidos a examen periodontal completo, donde se realizó el diligenciamiento de periodontograma, sondeando las 6 superficies de cada diente e implante en todos los casos (Anexo 4) con sonda Periodontal Carolina del Norte (Hu-Friedy Mfg. Chicago, IL. USA), espejo intraoral (USA DELTA. Envigado-Antioquia, Colombia) y pinzas algodonerías (Genéricas). En los dientes se tomaron en cuenta los criterios de profundidad de sondaje, nivel de inserción clínica y sangrado al sondaje (Armitage 1999). Los implantes con Mucositis, fueron seleccionados con los criterios de profundidad de sondaje no mayor a 5mm, sangrado al sondaje y signos de inflamación (Grupo A). La profundidad al sondaje de más de 5mm acompañada de sangrado y/o supuración

y signos de inflamación fueron consideradas como Periimplantitis (Grupo B). (7° European Workshop of Periodontology, 2010). Todas las mediciones fueron realizadas por un sólo operador.

### **Toma de Muestra:**

Para tomar las muestras se utilizaron conos de papel calibre 30 (Industrias dentales B.N.K, Bogotá, Colombia) que fueron colocados en tubos de Eppendorf (genéricos), los cuales se cerraron y sellaron con cinta testigo para esterilizar y fueron correctamente empacados en bolsas de esterilizar que se llevaron al servicio de esterilización de la Facultad de Odontología de la Universidad Nacional de Colombia donde se esterilizaron (figura 5).

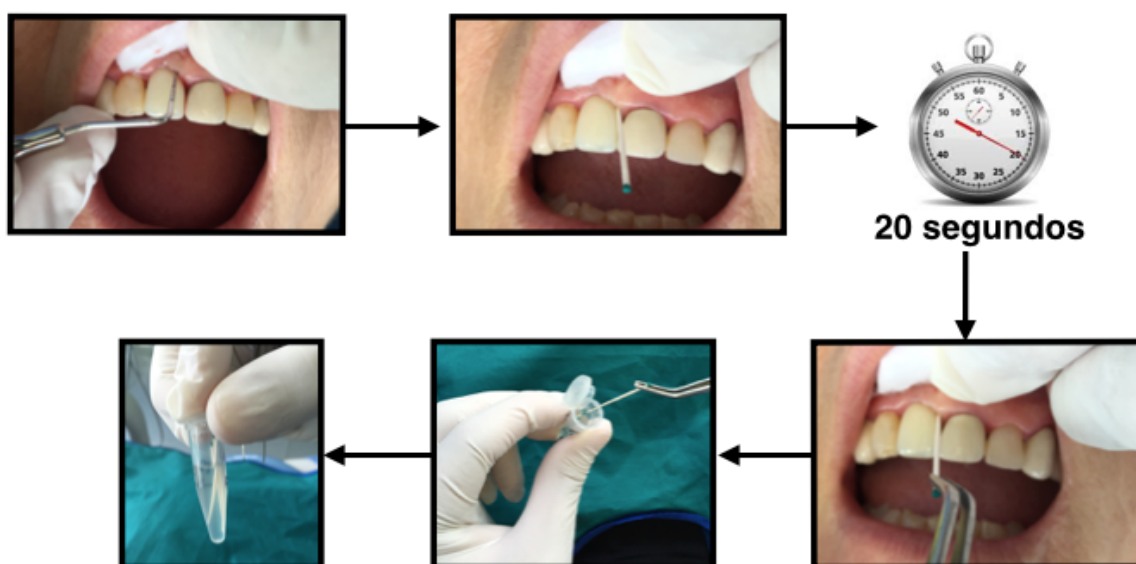


**FIGURA 5. PREPARACIÓN DE LAS PUNTAS DE PAPEL PARA LA TOMA DE LA MUESTRA**

Para el procedimiento de toma de la muestra se tuvieron en cuenta en todo momento los protocolos de seguridad requeridos para los procedimientos odontológicos tales como la higienización de manos con jabón antiséptico antes del procedimiento y uso de implementos de bioseguridad (bata, gorro, guantes de cirugía, tapabocas, visor o gafas de seguridad). Se realizó un aislamiento previo



del campo con rollos de algodón y con la jeringa triple se secó el lugar. La placa supragingival fue retirada con una gasa estéril. La muestra se tomó introduciendo tres puntas de papel estériles en el surco del implante con mayor profundidad y en el surco de dientes adyacentes seleccionados de los pacientes parcialmente edéntulos y dejándolas sumergidas por 20 segundos lo más profundo posible en el fondo de la bolsa. Después se retiró el cono del surco, procurando no tocar ningún área diferente a la correspondiente al punto elegido, como se muestra en la figura 6.



**FIGURA 6. PROCEDIMIENTO PARA LA TOMA DE MUESTRA**

#### **Recolección y transporte de las muestras:**

Las puntas de papel estériles utilizadas en cada caso fueron colocadas de manera separada en un tubo Eppendorf con 2 ml de medio de Stuart (Merck Chemical International corp. Darmstadt, Alemania), el cual está descrito como un medio de transporte eficaz para la recuperación y viabilidad de microorganismos patógenos, los cuales pueden permanecer hasta 8 semanas. Cada vial fue

debidamente rotulado con el código:

**P:** para paciente y el número correspondiente en el orden de participación de 1 hasta 31

**D:** para dientes y el número 1 y 2 y la letra

**i:** para implantes, identificando cada implante con un número de 1 hasta 10, debido a que el mayor número de implantes en un paciente fue diez.

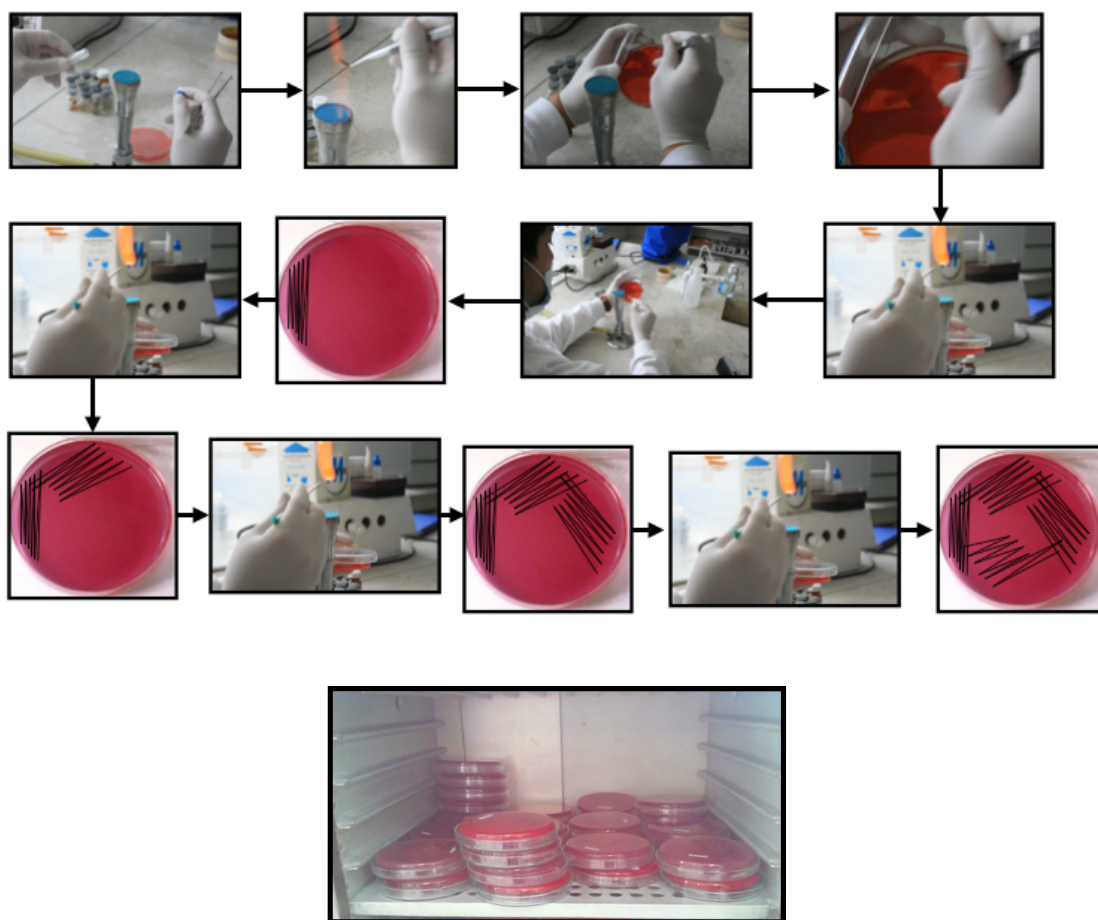
Posterior a la recolección se selló correctamente la tapa para ser llevados al Laboratorio de Microbiología Oral de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional de Colombia, donde serán procesados dentro de las 24 horas posteriores a la toma.

### **Procesamiento de la muestra:**

#### **Cultivo:**

Con el mechero cerca, se flameó el recipiente al abrirlo y al cerrarlo. Se tomó una punta de papel de cada eppendorf y se realizó la siembra de manera directa en el Agar MacConkey, el cual es un Agar específico para microorganismos Gram negativos y bacterias que fermentan lactosa, lo que limita el crecimiento y hace más fácil el aislamiento e identificación de enterobacterias. Posteriormente se esteriliza el asa curva y tocando con suavidad la superficie del medio se extiende la muestra realizando figuras de zigzag sobre la zona donde inicialmente se realizó la siembra con la punta de papel. Se esteriliza de nuevo el asa, se hace de nuevo extensión de la muestra en una dirección diferente. En este punto se realizan dos trazos iniciales que toquen el área extendida al principio de la siembra. Este proceso se repite dos veces más en diferentes direcciones, como lo muestra la figura 4. El recorrido del asa debe ser lo más largo posible con el fin de conseguir al final colonias aisladas que facilitará el proceso de identificación. Al destapar la placa de Petri se debe abrir sólo lo necesario para realizar la siembra.

Todo este proceso se llevó a cabo cerca al mechero, para evitar contaminación (49). Después de sembrar las bacterias de cada muestra se cerró la placa y se dejó en posición invertida para llevar a incubar a 37°C por 24 horas y los medios negativos se dejaron hasta 72 horas en incubación. (figura 7).

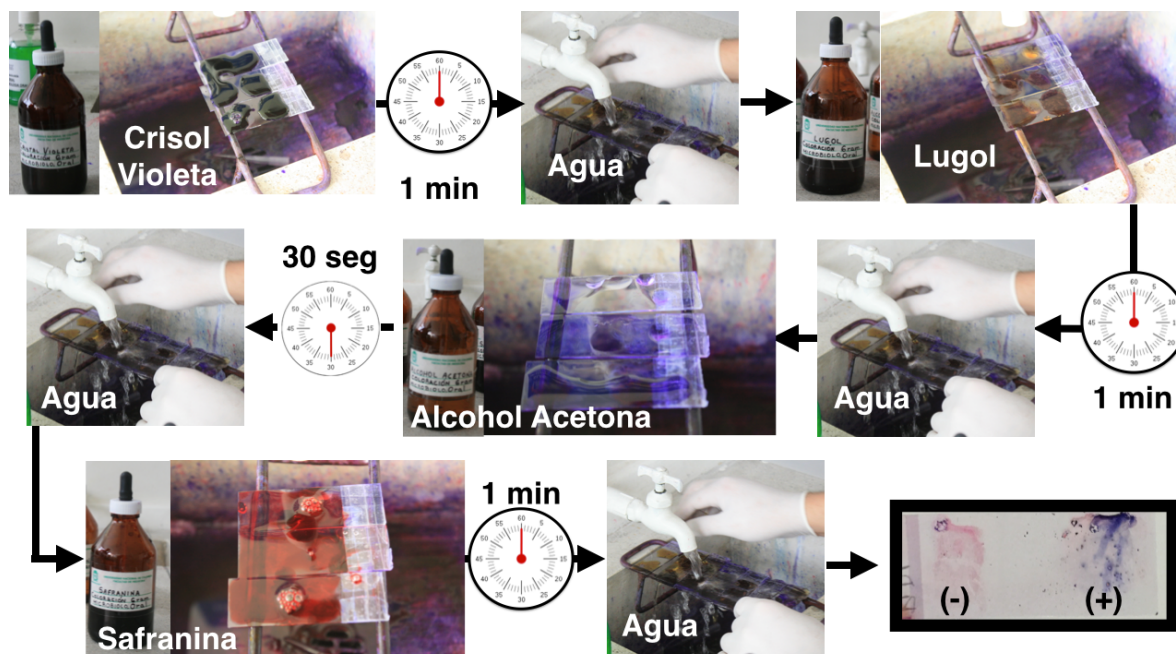


**FIGURA 7. PASOS PARA LA SIEMBRA DE LA MUESTRA POR AGOTAMIENTO**

### **Coloración de Gram:**

Una vez verificado el crecimiento, las colonias de interés fueron extendidas con ayuda de una gota de solución salina neutra estéril en placas de vidrio portaobjetos, y posteriormente selladas con calor usando un mechero de tipo Bunsen y para ser coloreadas con Tinción de Gram Merck® (Merck Chemical International corp. Darmstadt, Alemania). Para la realización de esta coloración

como primera medida se utiliza la solución de Crisol Violeta, haciendo agregados vigorosos y abundantes, sobre todas las placas a teñir. Se deja actuar por un minuto y es removido después con abundante agua. Como segundo paso se utiliza la solución de Lugol de manera cuantiosa, al cual es dejada por un tiempo de un minuto y retirada con un lavado de agua. Seguidamente es colocado el Alcohol Acetona, que a diferencia de los dos anteriores se deja actuar por 30 segundos y es retirada con agua. Para finalizar, se agrega Safranina, la cual es dejada por un minuto y lavada con agua abundante como se muestra en la figura 8. Una vez completados estos pasos, se dejan las placas secando a temperatura ambiente (50).



**FIGURA 8. PASOS PARA LA REALIZACIÓN DE LA COLORACIÓN DE GRAM.**

### **Identificación Bioquímica:**

Un inóculo tomado a partir de una colonia aislada en cultivo puro fue depositado por duplicado sobre una tarjeta de análisis (Bruker Daltonics, Bremen, Alemania) y se dejó secar a temperatura ambiente. Luego, los pocillos fueron cubiertos con

1µL de matriz (solución saturada de ácido α-ciano-4-hidroxicinámico [HCCA; Bruker Daltonics] en 50% acetonitrilo y 2,5% ácido triuoro-acético). MALDI-TOF MS fue realizado en el equipo Micro ex LT utilizando el software FlexControl (versión 3.0 Bruker Daltonics). Los parámetros del equipo fueron ajustados según recomendaciones del fabricante. Para la calibración del espectrómetro se utilizó una prueba estándar consistente en el perfil proteico de una cepa de *Escherichia coli* DH5 péptido alfa que posee proteínas adicionales (BTS; Bruker Daltonics). El estándar BTS se utilizó también como control positivo para validar la corrida. Los espectros para cada aislado fueron obtenidos con 240 disparos del láser en seis regiones distintas en el mismo pocillo y dichos espectros fueron analizados por el software MALDI Biotyper RTC 3.0 (Bruker Daltonics, Bremen, Alemania). Los espectros son creados considerando el tiempo requerido por las proteínas para llegar al detector lo que depende de la relación masa/carga de éstas. Cada espectro al ser comparado con la base de datos permite la asignación de un puntaje. Los criterios de identificación señalados por el fabricante son los siguientes: puntaje > 2,000 indica identificación a nivel de especie, puntaje entre 1,700-1,999 indica identificación confiable sólo a nivel de género, mientras que valores < 1,700 no permiten identificación, como se muestra en la figura 9.(43)

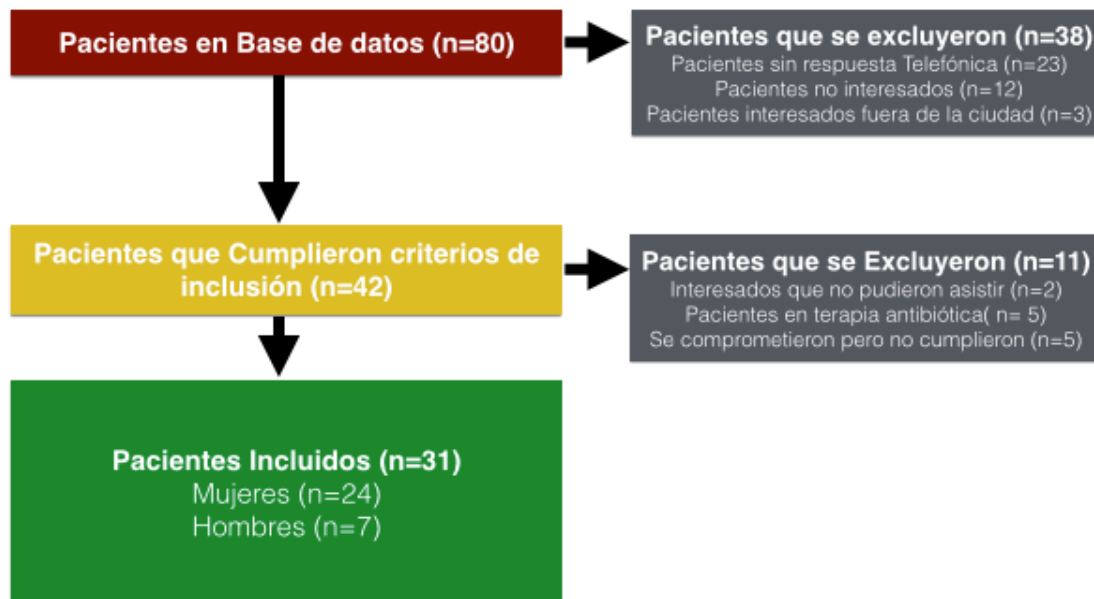
Rango	Descripción	Símbolos	Color
2.000 - 3.000	Identificación especie	( ++ )	Verde
1.700 - 1.999	Identificación género	( + )	Amarillo
0.000 - 1.699	No identificación	( - )	Rojo

**FIGURA 9. ESCALA DE PUNTAJE PARA LA IDENTIFICACIÓN EN EL SISTEMA MALDI-TOF MS**

## 8. RESULTADOS

Partiendo de una base de datos de 80 pacientes que fueron tratados con implantes dentales en la Facultad de Odontología de la Universidad Nacional de Colombia entre los años de 2007 y 2013. el contacto se realizó vía telefónica. 38 pacientes se excluyeron inicialmente; 23 pacientes no pudieron ser contactados, debido a que muchos de los números telefónicos están desconectados o no corresponden al paciente. 12 pacientes no estaban interesados, y 3 pacientes cambiaron su residencia para un lugar fuera de Bogotá. Los 42 pacientes restantes cumplieron los criterios de inclusión, pero fueron excluidos 2, debido a que por inconvenientes de salud no pudieron cumplir las citas en repetidas ocasiones. 5 de pacientes no pudieron ser incluidos debido a que habían sido tratados con terapia antibiótica en con al menos un mes de anterioridad; 5 pacientes confirmaron la cita pero no asistieron y al intentar contactarlo de nuevo no hubo respuesta alguna (Figura 9).

Gráfica 1. Diagrama de flujo de Pacientes incluidos y excluidos siguiendo los



El grupo de 31 pacientes que participaron en el estudio estaba conformado por 24 mujeres y 7 hombres (Tabla 1 y Gráfica 1), quienes participaron de manera voluntaria, se cumplió con el protocolo propuesto en la metodología del estudio. Los participantes mostraron total interés en el estudio, se resolvieron las dudas que se generaron respecto a la citación. Dentro de las principales dudas planteadas por los pacientes estaba, la posibilidad de dolor, efectos adversos o alguna enfermedad que pudiera estar afectando su salud, siendo este el posible motivo de la consulta, posibilidad de hemorragia.

Los 31 pacientes se encontraban en un rango de edad entre los 33 y los 83 años de edad, con una edad promedio de 60,4 años, (tabla 2 y la gráfica 3). Se analizaron un total de 103 implantes, Se observa que no se encontraron implantes sanos. La Mucositis fue el diagnóstico con mayor prevalencia en la población del estudio (tabla 4, Gráficas 5 y 6). De los 31 pacientes 3 fueron edentulos totales. En total se tomaron muestras de 56 dientes, los cuales tuvieron diagnóstico de Gingivitis, Periodontitis crónica moderada y severa (Gráfica17)

**Tabla 1. Cantidad de Pacientes por Sexo**

SEXO	CANTIDAD
Femenino	24
Masculino	7

● Femenino  
● Masculino

**Gráfica 2. Porcentaje de pacientes por Sexo**

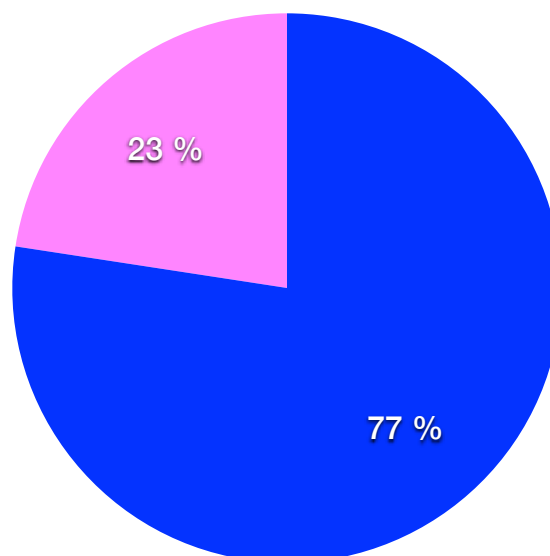


Tabla 2. Resultados de Laboratorio por Paciente					
F: Femenino M: Masculino					
P. Paciente M: Muestra d: Diente i: Implante DX: Diagnostico					
G: Gingivitis PCM: Periodontitis Crónica Moderada PCS: Periodontitis Crónica Severa					
MC: Mucositis PI: Periimplantitis					
BGM: Bacilo Gram Negativo					
P	M	Agar MacConkey	Identificación	DX	SEXO
P1	d1	-72 h	Negativo	G	F
	d2	BGN Fermentador de lactosa	<i>Klebsiella oxytoca</i>	G	
	i1	BGN Fermentador de lactosa	<i>Klebsiella oxytoca</i> (Raoultella)	MC	
	i2	BGN Fermentador de lactosa	<i>Klebsiella oxytoca</i>	MC	
	i3	BGN Fermentador de lactosa	<i>Klebsiella oxytoca</i>	MC	
	i4	BGN Fermentador de lactosa	<i>Klebsiella oxytoca</i> (Raoultella)	MC	
	i5	BGN Fermentador de lactosa	<i>Klebsiella oxytoca</i>	MC	
	i6	BGN Fermentador de lactosa	<i>Klebsiella oxytoca</i> (Raoultella)	MC	
	i7	BGN Fermentador de lactosa	<i>Klebsiella oxytoca</i>	MC	
P2	d1	BGN Fermentador de lactosa	<i>Klebsiella oxytoca</i>	PCM	F
	d2	BGN Fermentador de lactosa	<i>Klebsiella oxytoca</i>	G	
	i1	BGN Fermentador de lactosa	<i>Klebsiella oxytoca</i>	MC	
P3	d1	-72 h	Negativo	G	M
	d2	BGN Fermentador de lactosa	<i>Enterobacter kobei</i>	G	
	i1	-72 h	Negativo	MC	
	i2	-72 h	Negativo	MC	
	i3	BGN Fermentador de lactosa	<i>Klebsiella oxytoca</i>	MC	
	i4	BGN Fermentador de lactosa	<i>Enterobacter kobei</i>	MC	
	i5	-72 h	Negativo	MC	
P4	d1	BGN Fermentador de lactosa	<i>Serratia liquefanciens</i>	G	F
	d2	-72 h	Negativo	PCM	
	i1	-72 h	Negativo	MC	
	i2	BGN Fermentador de lactosa	<i>Enterobacter kobei</i>	MC	
	i3	BGN Fermentador de lactosa	<i>Serratia liquefanciens</i>	MC	
	i4	BGN Fermentador de lactosa	<i>Enterobacter kobei</i>	MC	



	i5	BGN Fermentador de lactosa	<i>Enterobacter kobei</i>	MC	
P5	d1	-72h	Negativo	G	F
	d2	-72h	Negativo	G	
	i1	-72h	Negativo	MC	
	i2	-72h	Negativo	MC	
	i3	-72h	Negativo	MC	
	i4	-72h	Negativo	MC	
	i5	-72h	Negativo	MC	
P6	d1	BGN Fermentador de lactosa	<i>Enterobacter cloacae complex</i>	G	F
	d2	BGN Fermentador de lactosa	<i>Enterobacter cloacae complex</i>	G	
	i1	BGN Fermentador de lactosa	<i>Enterobacter cloacae complex</i>	MC	
	i2	BGN Fermentador de lactosa	<i>Enterobacter cloacae complex</i>	MC	
	i3	BGN Fermentador de lactosa	<i>Enterobacter cloacae complex</i>	MC	
	i4	BGN Fermentador de lactosa	<i>Enterobacter cloacae complex</i>	MC	
P7	d1	-72h	Negativo	G	F
	d2	-72h	Negativo	G	
	i1	-72h	Negativo	PI	
	i2	-72h	Negativo	PI	
P8	d1	-72h	Negativo	G	F
	d2	-72h	Negativo	G	
	i1	-72h	Negativo	PI	
	i2	BGN Fermentador de lactosa	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	PI	
P9	d1	-72h	Negativo	PCS	F
	d2	-72h	Negativo	G	
	i1	-72h	Negativo	MC	
	i2	-72h	Negativo	MC	
	i3	-72h	Negativo	MC	
	i4	-72h	Negativo	MC	
	i5	-72h	Negativo	MC	
	i6	-72h	Negativo	MC	
	i7	-72h	Negativo	MC	

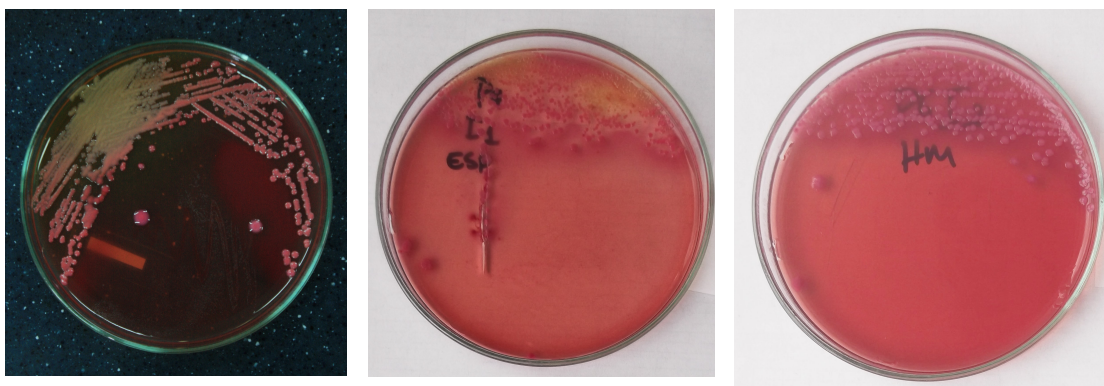
	i8	-72h	Negativo	MC	
P10	d1	-72h	Negativo	G	F
	d2	-72h	Negativo	G	
	i1	-72h	Negativo	MC	
	i2	-72h	Negativo	MC	
P11	d1	BGN Fermentador de lactosa	<i>Klebsiella oxytoca</i>	G	M
	d2	BGN Fermentador de lactosa	<i>Klebsiella oxytoca</i>	G	
	i1	- 72h	Negativo	PI	
P12	d1	-72h	Negativo	PCM	M
	d2	-72h	Negativo	G	
	i1	BGN Fermentador de lactosa	<i>Enterobacter kobei</i>	MC	
	i2	-72 h	Negativo	MC	
	i3	-72 h	Negativo	MC	
	i4	BGN Fermentador de lactosa	<i>Klebsiella oxytoca</i>	MC	
	i5	BGN Fermentador de lactosa	<i>Klebsiella oxytoca</i>	MC	
P13	d1	-72 h	Negativo	G	F
	d2	-72 h	Negativo	PCM	
	i1	-72 h	Negativo	PI	
	i2	-72 h	Negativo	MC	
P14	d1	-72 h	Negativo	PCM	M
	d2	-72 h	Negativo	G	
	i1	BGN Fermentador de lactosa	<i>Serratia liquefanciens</i>	MC	
P15	d1	BGN Fermentador de lactosa	<i>Enterobacter kobei</i>	G	M
	d2	-72 h	Negativo	PCS	
	i1	-72 h	Negativo	MC	
	i2	-72 h	Negativo	MC	
	i3	BGN Fermentador de lactosa	<i>Enterobacter kobei</i>	MC	
P16	d1	BGN Fermentador de lactosa	<i>Klebsiella oxytoca</i>	G	F
	d2	BGN Fermentador de lactosa	<i>Serratia liquefanciens</i>	PCM	
	i1	BGN Fermentador de lactosa	<i>Serratia liquefanciens</i>	PI	
	d1	BGN Fermentador de lactosa	<i>Serratia liquefanciens</i>	G	

P17	d2	-72 h	Negativo	G	F
	i1	-72 h	Negativo	MC	
	i2	-72 h	Negativo	MC	
P18	d1	BGN no fermentador de lactosa	<i>Pseudomonas koreensis</i>	G	F
	d2	BGN Fermentador de lactosa	<i>Serratia marcescens</i>	PCM	
	i1	BGN Fermentador de lactosa-	<i>Serratia marcescens</i> - <i>Citrobacter freundii</i>	MC	
P19	d1	BGN Fermentador de lactosa	<i>Enterobacter cloacae</i>	PCS	F
	d2	BGN Fermentador de lactosa	<i>Enterobacter cloacae</i>	PCS	
	i1	BGN Fermentador de lactosa-	<i>Klebsiella oxytoca</i> - <i>Enterobacter cloacae</i>	MC	
	i2	BGN Fermentador de lactosa-	<i>Klebsiella oxytoca</i> - <i>Enterobacter cloacae</i>	PI	
P20	d1	-72 h	Negativo	G	M
	d2	-72 h	Negativo	G	
	i1	-72 h	Negativo	MC	
	i2	-72 h	Negativo	MC	
	i3	-72 h	Negativo	MC	
	i4	-72 h	Negativo	MC	
	i5	-72 h	Negativo	MC	
	i6	-72 h	Negativo	MC	
P21	d1	-72 h	Negativo	G	M
	d2	-72 h	Negativo	G	
	i1	-72 h	Negativo	MC	
	i2	-72 h	Negativo	MC	
	i3	-72 h	Negativo	PI	
P22	i1	-72 h	Negativo	MC	F
	i2	-72 h	Negativo	MC	
P23	i1	-72 h	Negativo	MC	F
	i2	-72 h	Negativo	MC	
	i3	BGN Fermentador de lactosa	<i>Enterobacter kobei</i>	MC	
	i4	-72 h	Negativo	MC	
P24	d1	-72 h	Negativo	G	F
	d2	-72 h	Negativo	G	

P24	i1	-72 h	Negativo	MC	F
	i2	-72 h	Negativo	MC	
P25	d1	-72 h	Negativo	G	F
	d2	-72 h	Negativo	G	
	i1	-72 h	Negativo	MC	
	i2	-72 h	Negativo	MC	
	i3	-72 h	Negativo	MC	
	i4	-72 h	Negativo	MC	
	i5	-72 h	Negativo	MC	
	i6	-72 h	Negativo	MC	
	i7	-72 h	Negativo	MC	
	i8	BGN Fermentador de lactosa	<i>Klebsiella oxytoca</i>	MC	
	i9	-72 h	Negativo	MC	
	i10	BGN Fermentador de lactosa	<i>Enterobacter kobei</i>	MC	
P26	d1	-72 h	Negativo	G	F
	d2	-72 h	Negativo	PCM	
	i1	-72 h	Negativo	PI	
P27	d1	BGN Fermentador de lactosa	<i>Enterobacter cloacae</i>	G	F
	d2	BGN Fermentador de lactosa	<i>Enterobacter cloacae</i>	G	
	i1	BGN Fermentador de lactosa	<i>Enterobacter cloacae</i>	MC	
	i2	-72 h	Negativo	MC	
	i3	BGN Fermentador de lactosa	<i>Enterobacter cloacae</i>	MC	
P28	d1	- 72 h	Negativo	PCS	F
	d2	BGN no fermentador de lactosa	<i>Pseudomonas oryzihabitans</i>	PCS	
	i1	BGN no fermentador de lactosa	<i>Mycoplasma arginini</i>	PI	
	i2	BGN no fermentador de lactosa	<i>Pseudomonas oryzihabitans</i>	PI	
P29	d1	BGN no fermentador de lactosa	<i>Pseudomona synxantha</i>	G	F
	d2	- 72 h	Negativo	PCM	
	i1	BGN no fermentador de lactosa	<i>Pseudomona synxantha</i>	MC	
	i2	BGN Fermentador de lactosa-	<i>Citrobacter freundii</i>	MC	
	i3	- 72 h	Negativo	MC	

	i4	BGN no fermentador de lactosa	<i>Pseudomona synxantha</i>	MC	
P30	d1	- 72 h	Negativo	G	F
	d2	- 72 h	Negativo	G	
	i1	- 72 h	Negativo	MC	
	i2	- 72 h	Negativo	MC	
	i3	- 72 h	Negativo	MC	
P31	i1	BGN no fermentador de lactosa	<i>Acinetobacter iwoffii</i>	MC	F
	i2	BGN no fermentador de lactosa	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	MC	
	i3	- 72 h	Negativo	MC	
	i4	BGN no fermentador de lactosa	<i>Acinetobacter iwoffii</i>	MC	

**FIGURA 10. TRES AGAR MACCONKEY DE MUESTRAS DE PACIENTES QUE PARTICIPARON EN EL ESTUDIO**



**FIGURA11. VISTA AL MICROSCOPIO DE UNA DE LAS PLACAS A LAS QUE SE LES REALIZÓ TINCIÓN DE GRAM,**

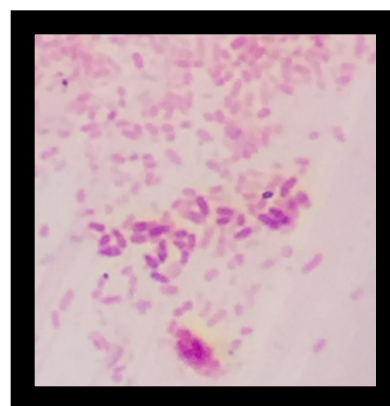
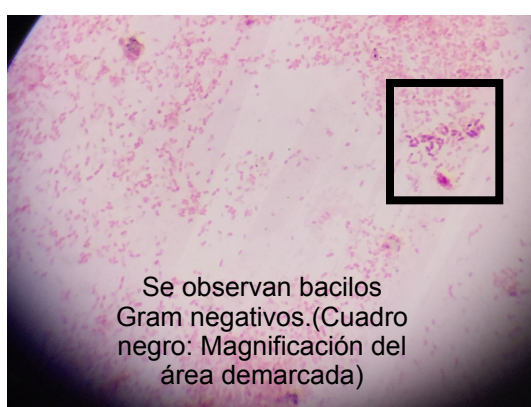
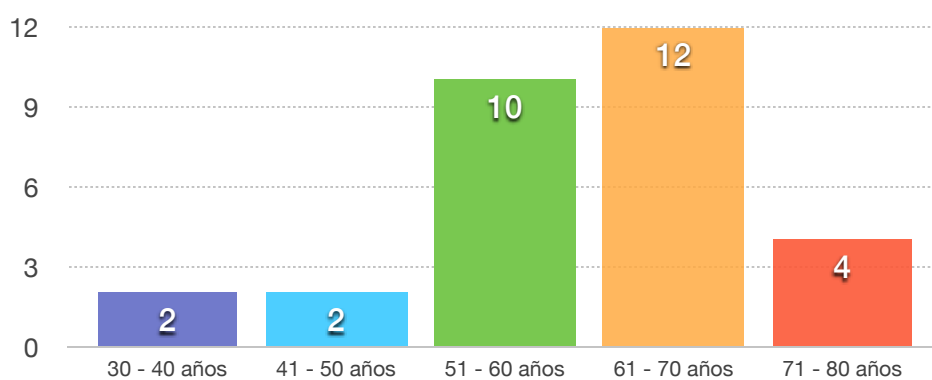


Tabla 3. Cantidad de Pacientes por Grupo de Edad

EDAD	Nº
30 - 40 años	2
41 - 50 años	2
51 - 60 años	10
61 - 70 años	12
71 - 80 años	4
+ 80 años	1

Gráfica 3. Cantidad de Pacientes por Grupo de Edad



Gráfica 4. Porcentaje de pacientes por Grupo de edad

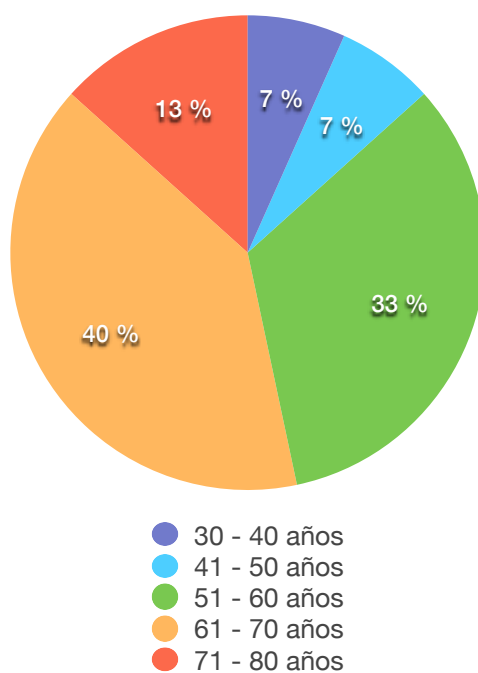
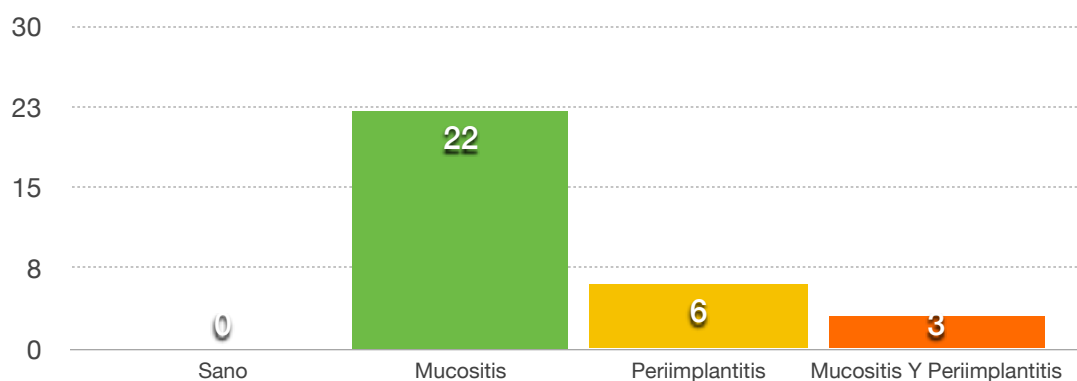


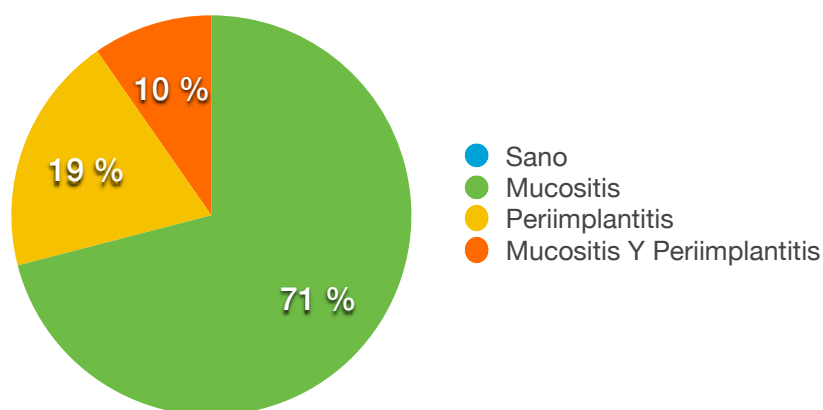
Tabla 4. Pacientes con Enfermedad Periimplantar

DIAGNÓSTICO	Nº
Sano	0
Mucositis	22
Periimplantitis	6
Mucositis Y Periimplantitis	3

Gráfica 5. Pacientes Con Enfermedad Periimplantar



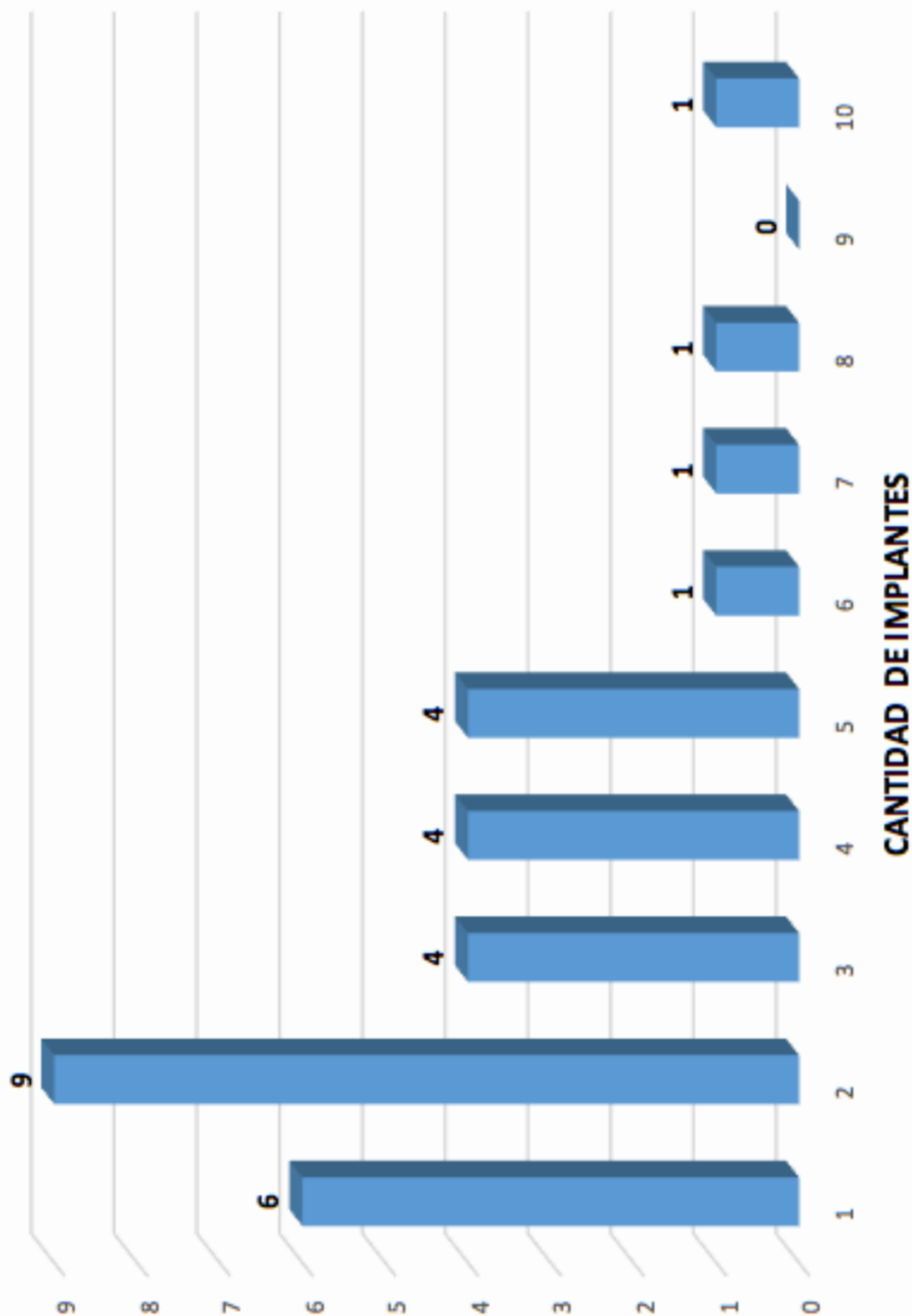
Gráfica 6. Porcentaje de Pacientes con Enfermedad Periimplantar



De los 31 pacientes evaluados, 22 pacientes presentaron Mucositis, 6 pacientes presentaron Periimplantitis y 3 pacientes presentaron ambas enfermedades al tiempo. Se evaluaron en total 103 implantes, de los cuales 91 presentaban Mucositis; de estos 10 correspondieron a pacientes totalmente edéntulos y 12 presentaban Periimplantitis, en este grupo de Periimplantitis no se

encontraron pacientes edéntulos, por lo cual el subgrupo de pacientes edéntulos con Perimplantitis no se pudo conformar. No se encontró ningún implante sano. Por otro lado en los 31 pacientes se evaluaron un total del 56 dientes, de los cuales 41 presentaron Gingivitis y 15 presentaron peridontitis crónica moderada y severa, de los dientes evaluados ninguno estaba sano.

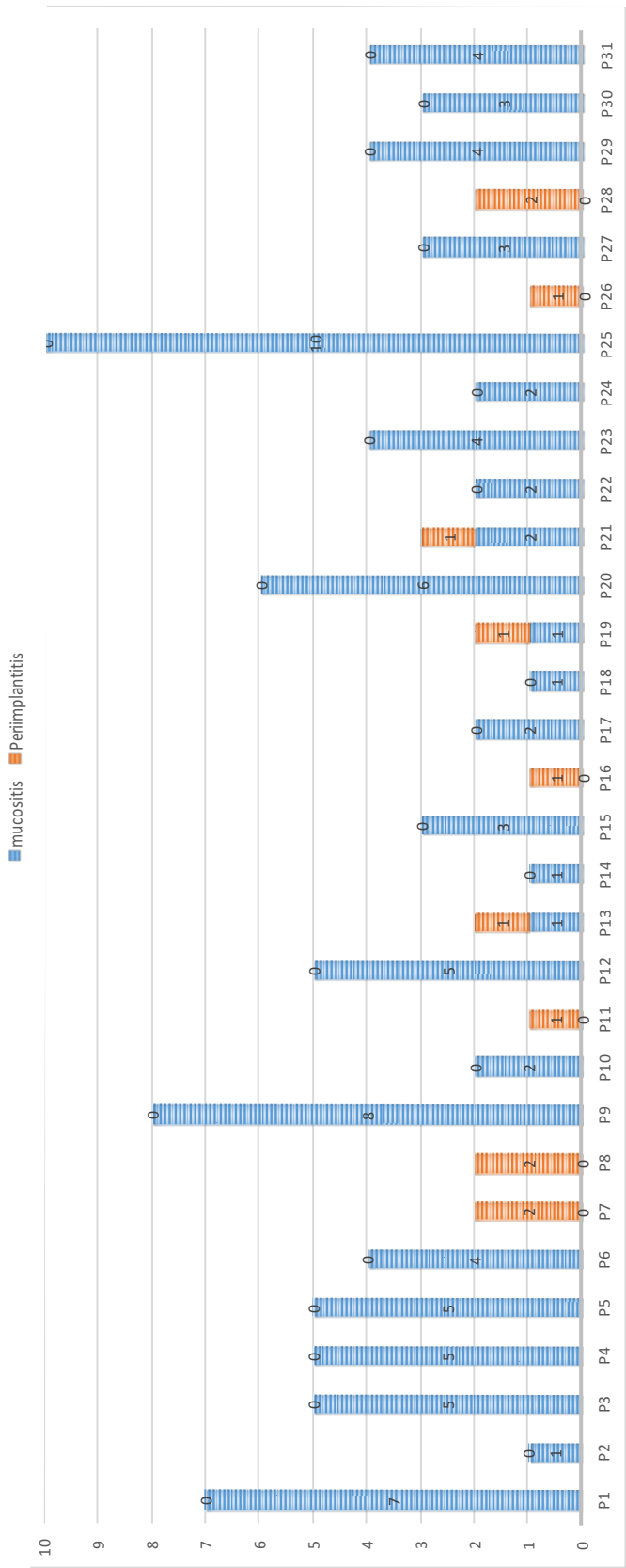
Gráfica 7. Distribución de Número de Implantes por Paciente



Se observa que la moda de numero de implantes es 2, lo que significa que es el numero que mas se repite, es decir que la mayoría de los pacientes que participaron en el estudio tiene 2 implantes

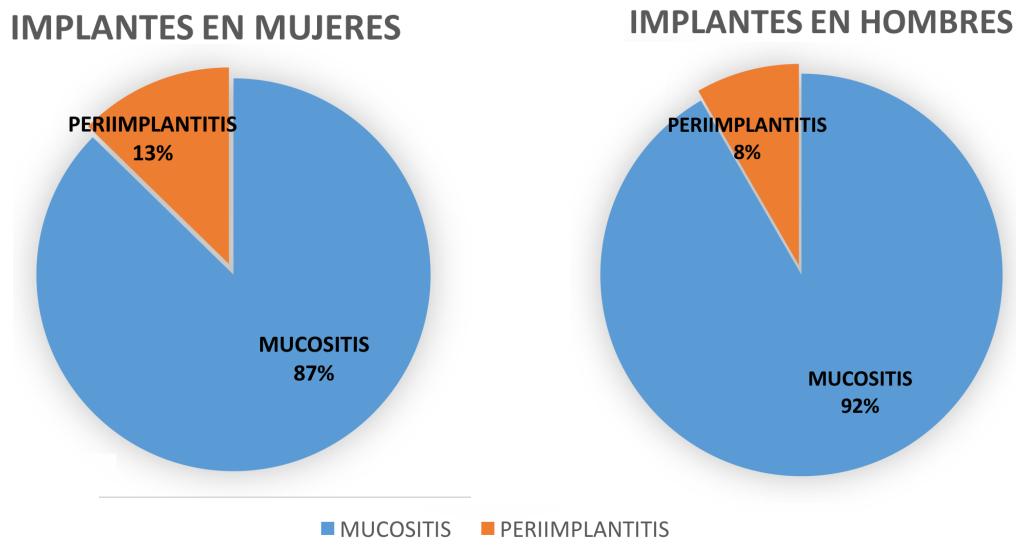


Gráfica 8. Diagnóstico de Enfermedad Periimplantar por Paciente



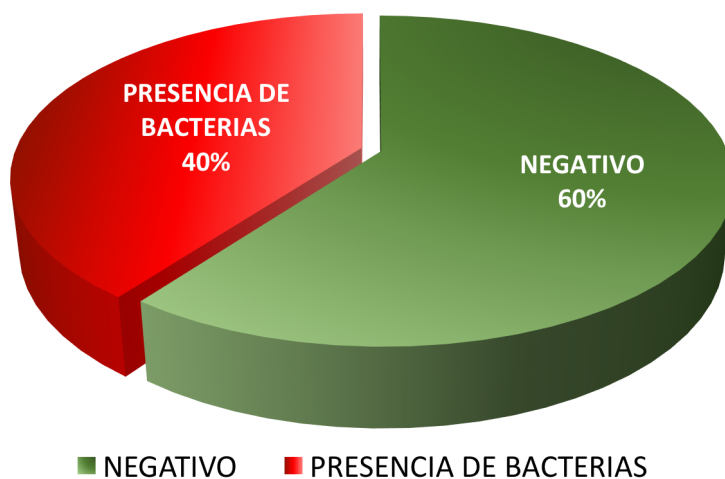
En esta gráfica se observa la distribución de enfermedad periimplantar por implante en cada paciente, se observa que la enfermedad con mayor prevalencia fue la Mucositis . En el Paciente 13, 19 y 21 se observa que presentan las dos entidades.

**Gráfica 9. Distribución de Enfermedad Periimplantar en Hombres y en Mujeres**



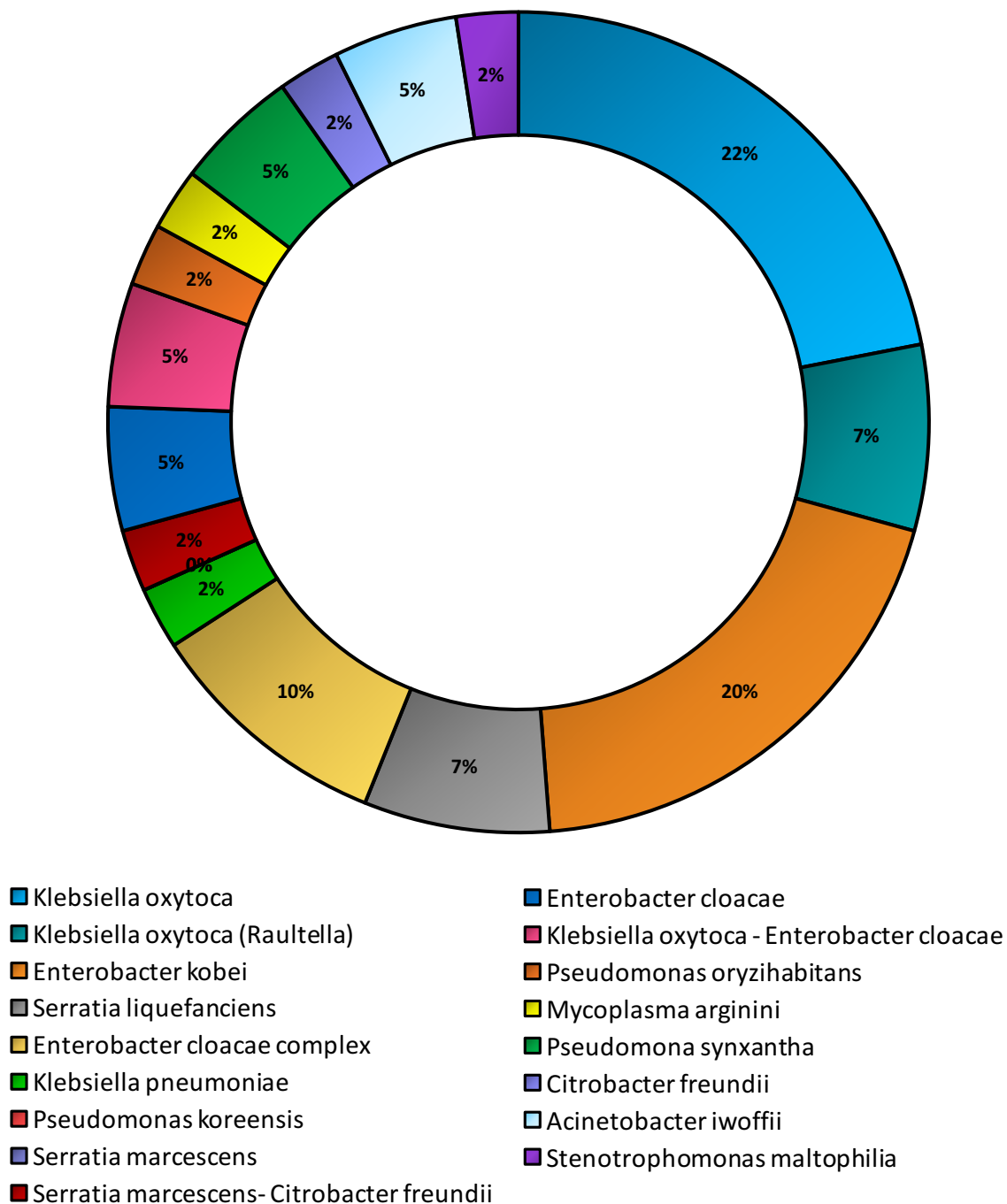
Se observa que tanto en hombres como en mujeres la Mucositis tuvo mayor prevalencia. Las relación entre Mucositis y Periimplantitis por sexo fue similar.

**Gráfica 10. Porcentaje de muestras positivas en implantes**



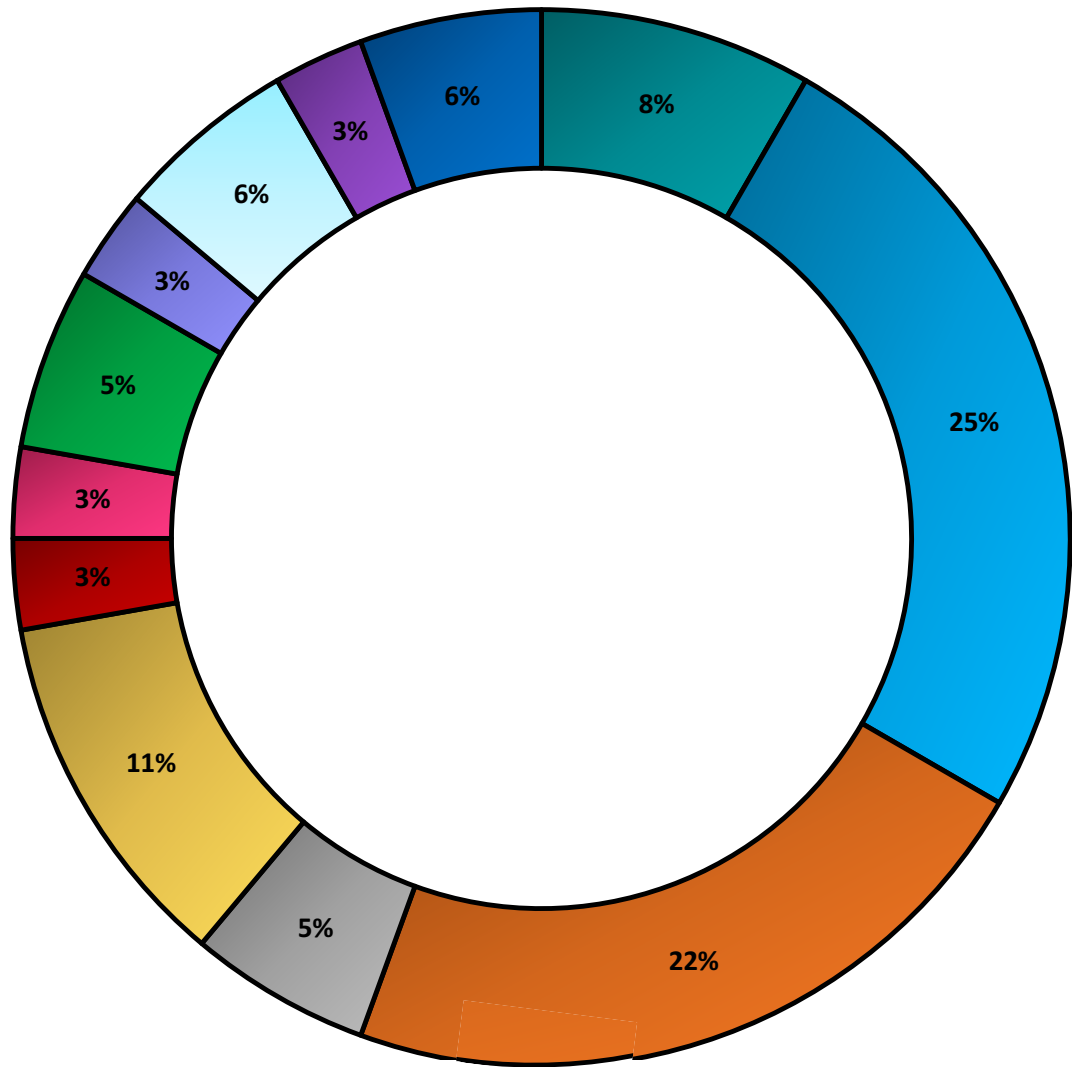
Del total de implantes analizados el 40% resultó positivo para enterobacterias

**Gráfica 11. Porcentaje de presencia de Enterobacterias en las muestras positivas de implantes**



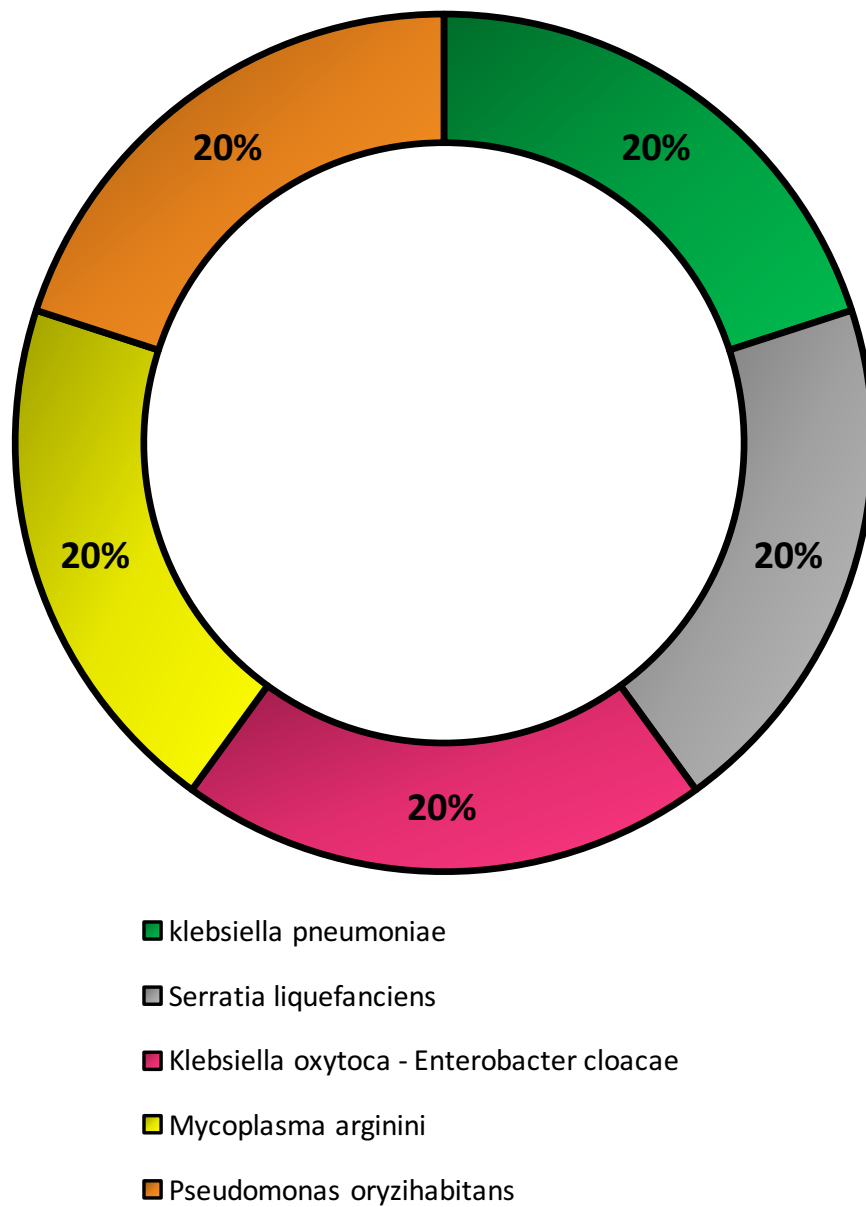
Las enterobacterias que se aislaron con mayor frecuencia en los implantes que resultaron positivos para enterobacterias fueron *Klebsiella oxytica*, *Enterobacter kobei* y *Enterobacter Cloacae Complex*.

**Gráfica 12. Enterobacterias Aisladas en muestras de 36 implantes con diagnóstico de mucositis que dieron resultado positivo.**



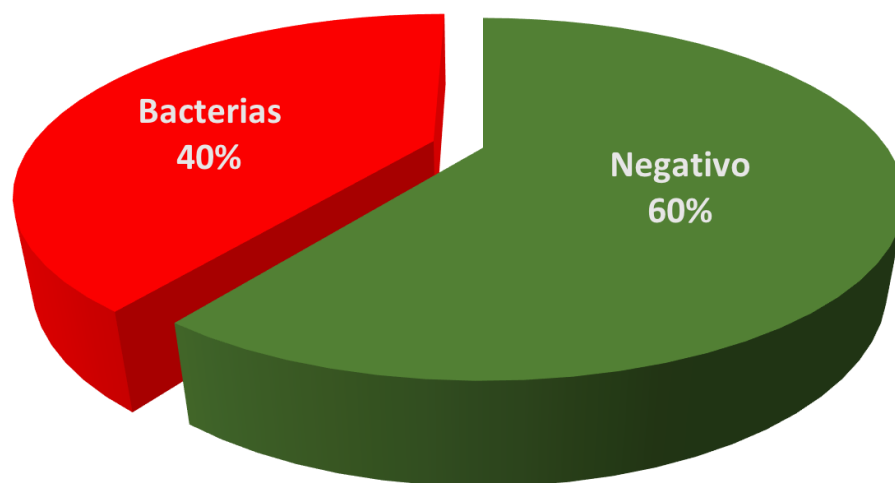
- Klebsiella oxytoca (Raultella)
- Klebsiella oxytoca
- Enterobacter kobei
- Serratia liquefanciens
- Enterobacter cloacae complex
- Serratia marcescens- Citrobacter freundii
- Klebsiella oxytoca - Enterobacter cloacae
- Pseudomona synxantha
- Citrobacter freundii
- Acinetobacter iwoffii
- Stenotrophomonas maltophilia
- Enterobacter cloacae

**Gráfica 13. Muestra de 5 implantes con diagnóstico de Periimplantitis que dieron resultado positivo para Enterobacterias**

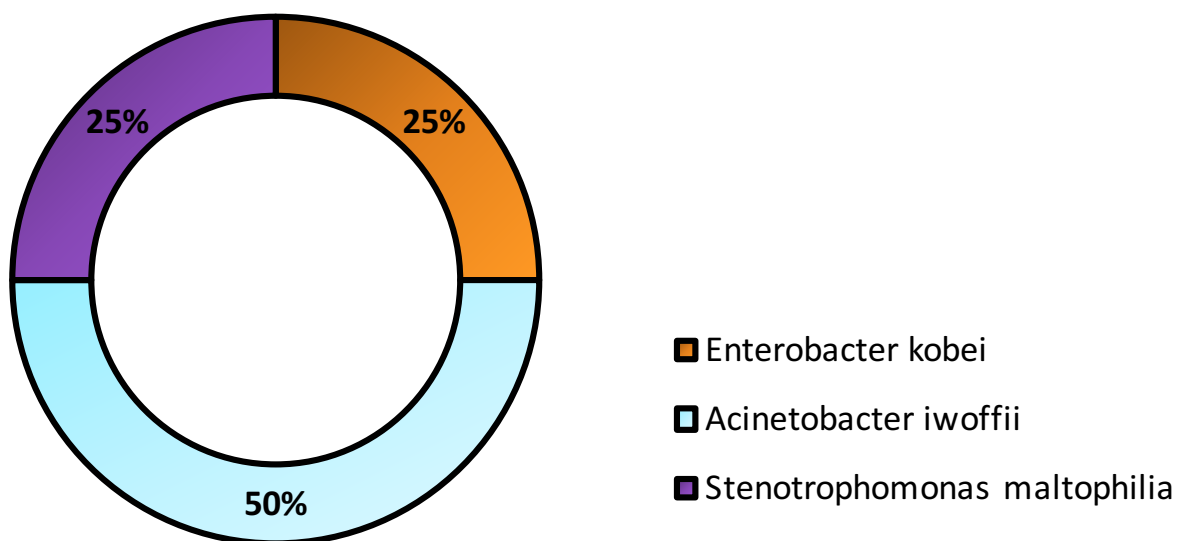


La frecuencia de aislamiento fue la misma para las 5 bacterias asociadas a las muestras positivas en los pacientes con diagnóstico de Periimplantitis. El *Mycoplasma arginini* fue la única de las bacterias aisladas en periimplantitis que no se aisló en implantes con Mucositis.

**Gráfica 14. Porcentaje de presencia de Enterobacterias en implantes de pacientes edéntulos totales**

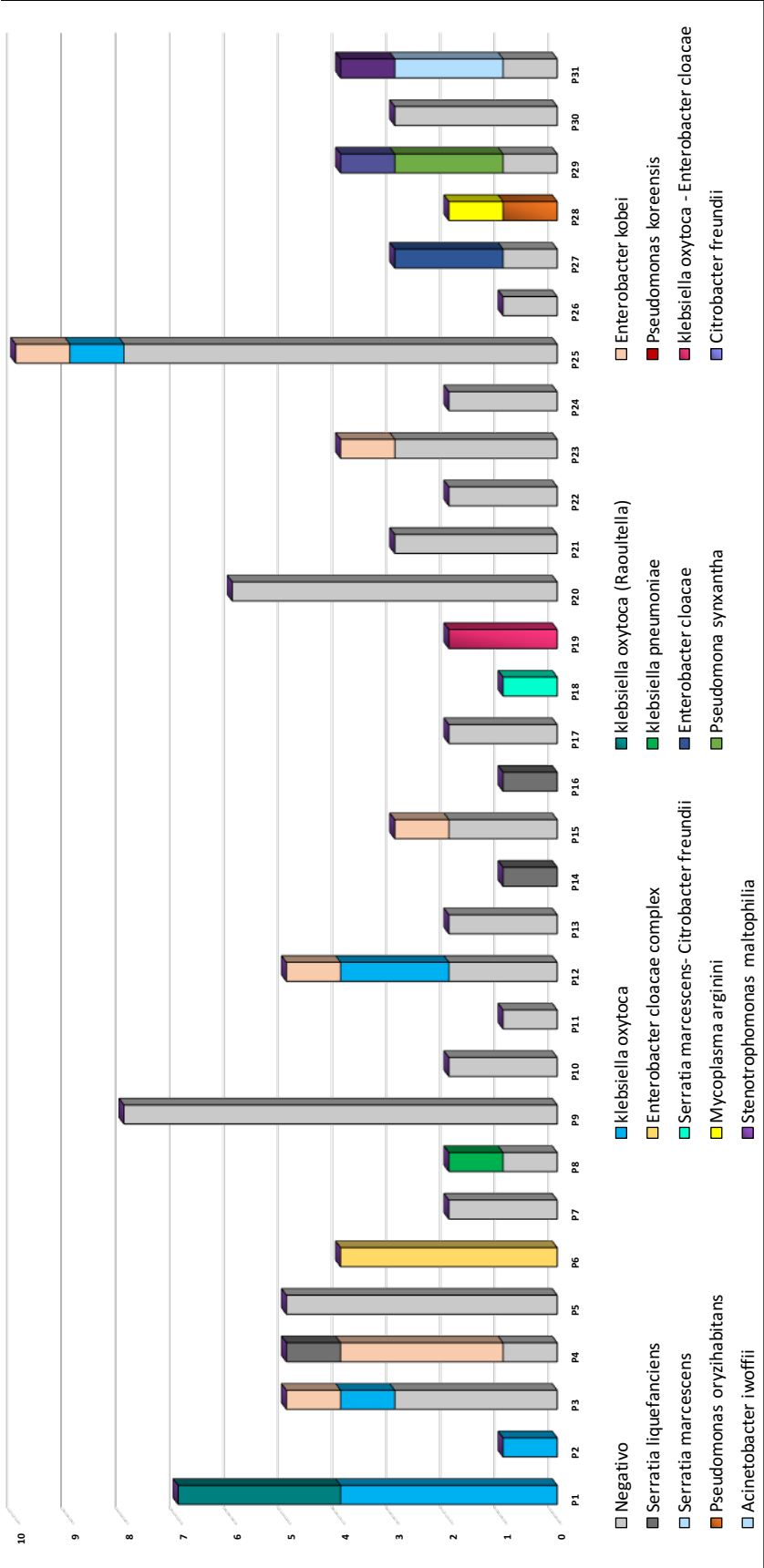


**Gráfica 15. Enterobacterias aisladas en muestras de pacientes edéntulos totales (P22, P23 y P31)**



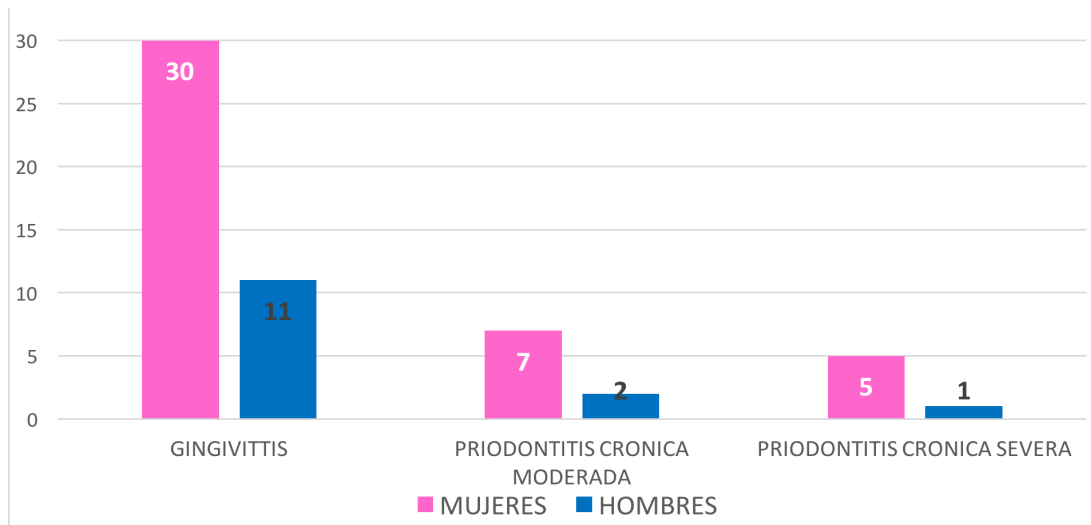
Aunque en los pacientes edentulos totales (P22, P23 y P31) se mantiene la relación entre muestras negativas y positivas para enterobacterias, Las enterobacterias que se aislaron con mayor frecuencia en los implantes que resultaron positivos para enterobacterias y con diagnostico de Mucositis fueron *Enterobacter kobei*, *Stenophomonas maltophilia* y *Acinetobacter iwoffii*, siendo este último el de mayor porcentaje respecto a los otros dos.

Gráfica 16. Frecuencia de Enterobacterias por implantes en cada Paciente



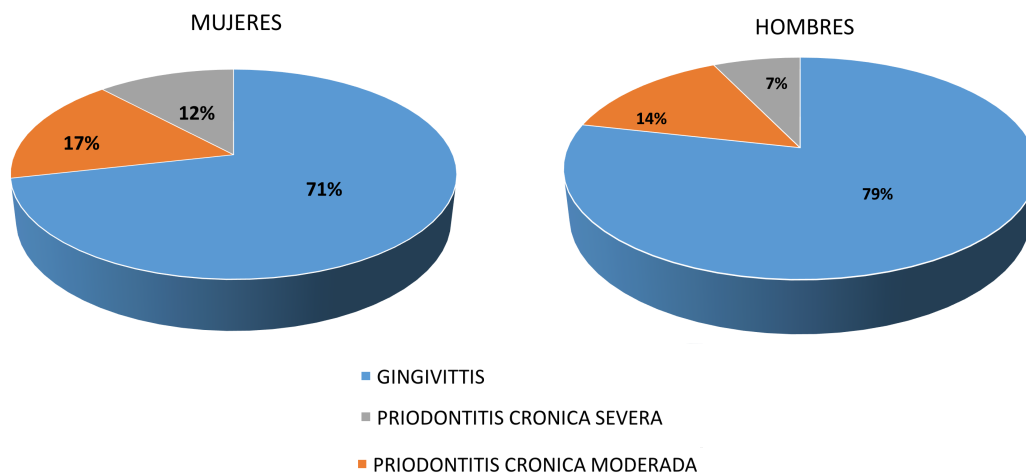
En esta gráfica se observa la alta frecuencia de las muestras negativas y la distribución heterogénea de las enterobacterias en los 31 pacientes.

**Gráfica 17. Enfermedad Periodontal según sexo (Muestra: 56 Dientes)**



Tanto para hombres como para mujeres la Gingivitis tuvo el mayor número de

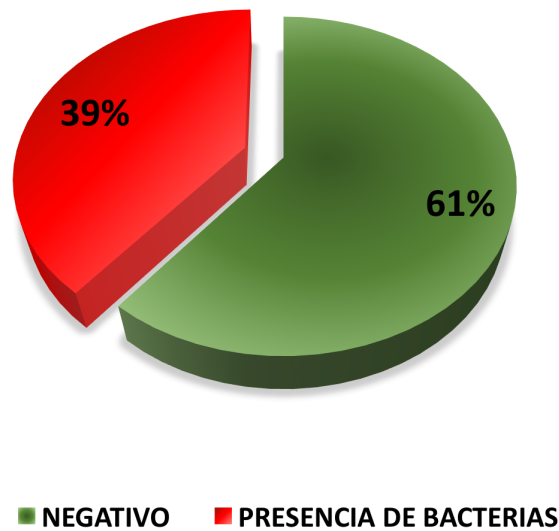
**Gráfica 18. Distribución de Enfermedad Periodontal en Hombres y en Mujeres**



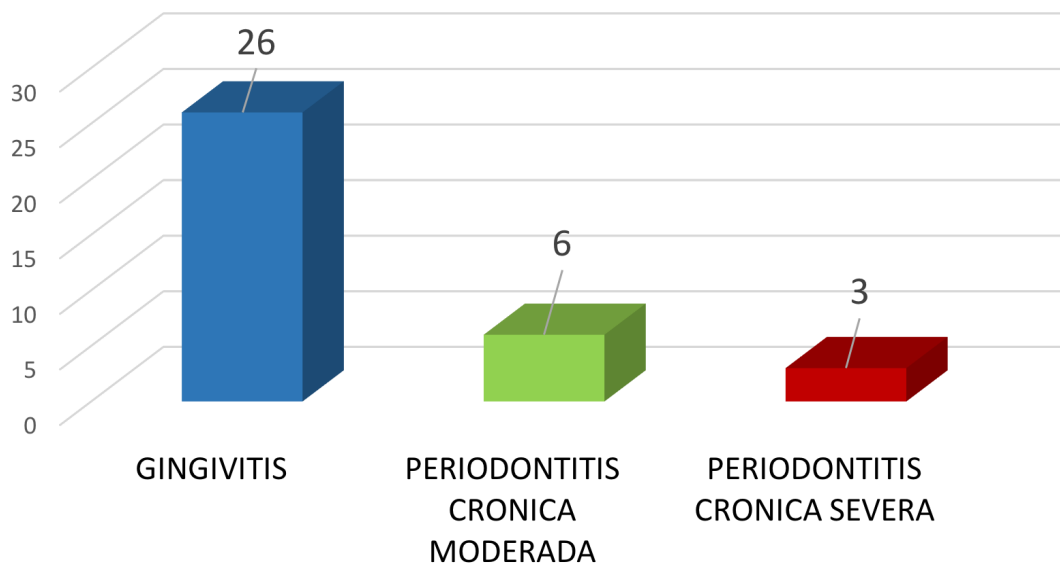
Se observa que tanto en hombres como en mujeres la Gingivitis tuvo mayor prevalencia, lo que resulta similar. La relación entre Mucositis y Periimplantitis por sexo fue similar a la encontrada en enfermedad Periodontal.



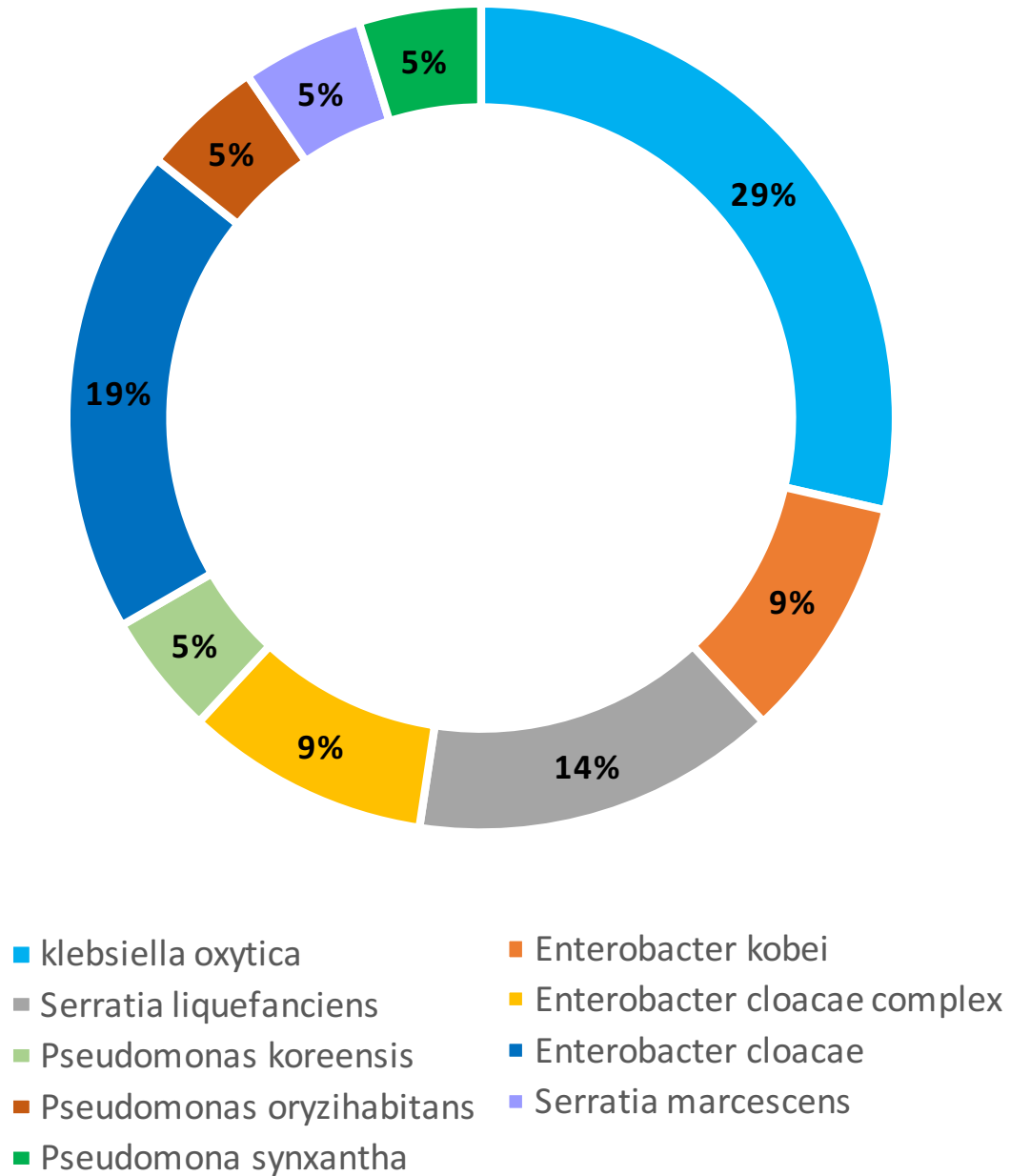
**Gráfica 19. Porcentaje de Muestras positivas para Enterobacterias en  
Dientes Adyacentes a los Implantes  
(Muestra: 56 Dientes)**



**Gráfica 20. Número de Pacientes con enfermedad Periodontal que  
tuvieron resultados negativos para Enterobacterias**

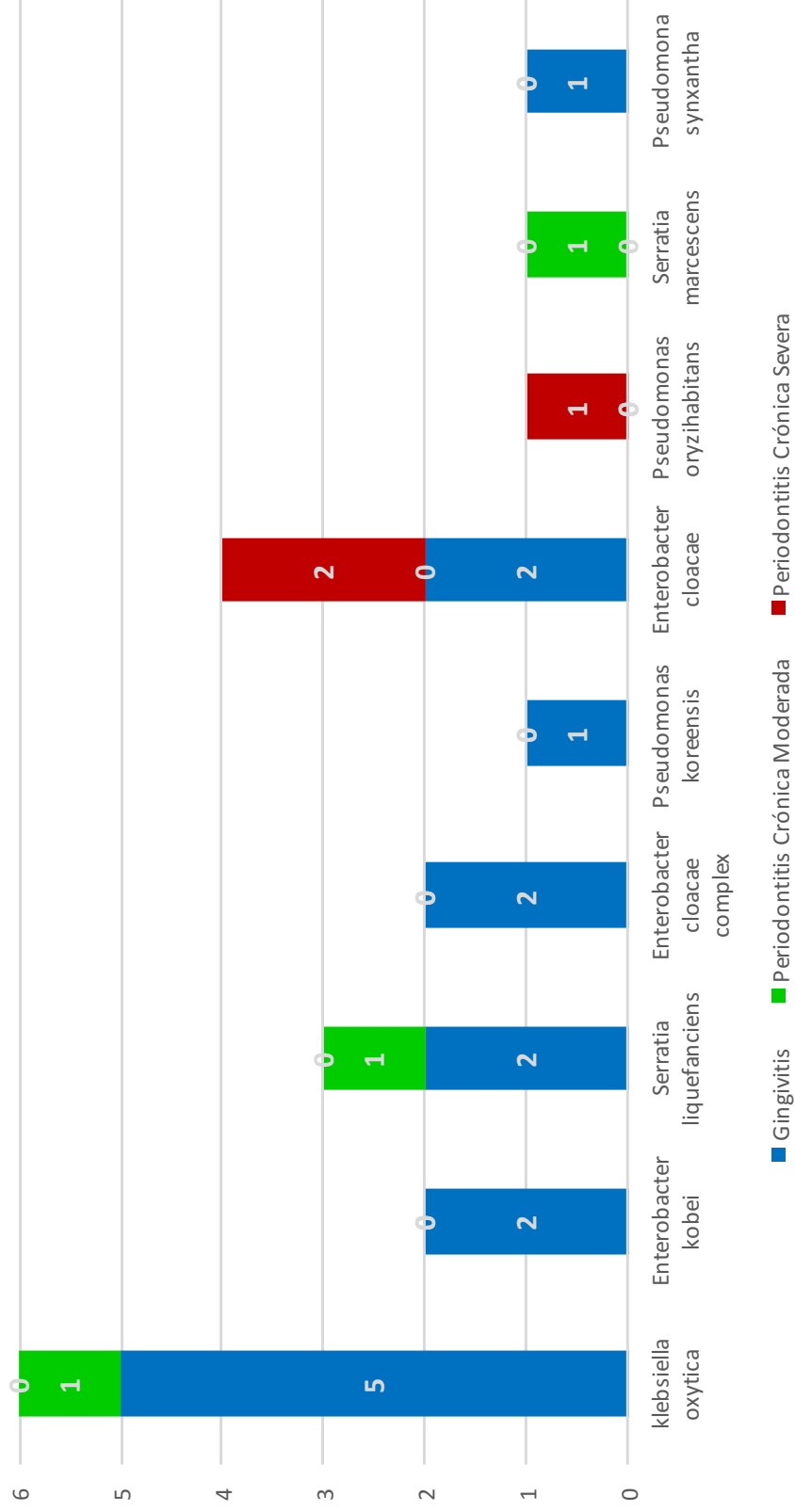


**Gráfica 21. Enterobacterias identificadas en la muestra de Dientes  
Adyacentes a los implantes que tuvieron resultado positivo**



*Klebsiella oxytica*, *Enterobacter cloacae* y la *Serratia liquefaciens*, fueron los tres microorganismos entéricos aislados con mayor frecuencia en los dientes adyacentes a los implantes

**Gráfica 22. Muestras para cada Enterobacteria aislada en dientes adyacentes los implantes con Enfermedad Periodontal**



La prueba de Chi Cuadrado se utiliza cuando se desea conocer el contraste que hay entre dos variables cualitativas, es decir, si el valor de una de ellas puede depender del valor de la otra.

En este caso se propusieron las siguientes hipótesis nulas y alternativas:

<b>Hipótesis entre enterobacterias y diagnóstico de dientes</b>
$(H_0)$ No existe una relación entre el diagnóstico en pacientes con dientes y las enterobacterias
$(H_a)$ Si existe una relación entre el diagnóstico en pacientes con dientes y las enterobacterias
<b>Hipótesis entre enterobacterias y diagnóstico de Implantes</b>
$(H_0)$ No existe una relación entre el diagnóstico en pacientes con implantes y las enterobacterias
$(H_a)$ Si existe una relación entre el diagnóstico en pacientes con implantes y las enterobacterias

Se construyeron las siguientes tablas de contingencia para poder desarrollar a Chi Cuadrado:

En ésta tabla se observan las bacterias contra el diagnóstico según en dientes o implantes. Los datos que se encuentran en la misma son los datos tomados de la muestra.

Tabla 5	Diagnóstico						
OBSERVADO	Dientes				Implantes		
Bacteria	G	Pcm	Pcs	tota l	MC	PI	Tota l

<i>Acinetobacter lwoffii</i>	0	0	0	0	2	0	2
<i>Citrobacter freundii</i>	0	0	0	0	1	0	1
<i>Enterobacter cloacae</i>	2	0	2	4	2	0	2
<i>Enterobacter cloacae complex</i>	2	0	0	2	4	0	4
<i>Enterobacter kobei</i>	2	0	0	2	8	0	8
<i>klebsiella oxytica</i>	5	1	0	6	9	0	9
<i>klebsiella oxytica - Enterobacter cloacae</i>	0	0	0	0	1	1	2
<i>klebsiella oxytica (Raultella)</i>	0	0	0	0	3	0	3
<i>klebsiella pneumoniae</i>	0	0	0	0	0	1	1
<i>Mycoplasma arginini</i>	0	0	0	0	0	1	1
<i>Pseudomona synxantha</i>	1	0	0	1	2	0	2
<i>Pseudomonas koreensis</i>	1	0	0	1	0	0	0
<i>Pseudomonas oryzihabitans</i>	0	0	1	1	0	1	1
<i>Serratia liquefaciens</i>	2	1		3	2	1	3
<i>Serratia marcescens</i>	0	1	0	1	0	0	0
<i>serratia marcescens-Citrobacter freundii</i>	0	0	0	0	1	0	1
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	0	0	0	0	1	0	1
<b>Totales</b>	15	3	3	21	36	5	41
	0,7142857	0,1428571	0,1428571	0,8780487	0,1219512		
	1	4	4	8	2		

En la siguiente tabla se observan los datos esperados dados en proporciones:

Tabla 6	Diagnóstico						
Esperado	Dientes				Implantes		
Bacteria	G	Pcm	Pcs	total	MC	PI	Total
<i>Acinetobacter lwoffii</i>	0	0	0	0	1,75609756	0,24390244	2
<i>Citrobacter freundii</i>	0	0	0	0	0,87804878	0,12195122	1
<i>Enterobacter cloacae</i>	2,85714286	0,57142857	0,57142857	4	1,75609756	0,24390244	2
<i>Enterobacter cloacae</i> <i>complex</i>	1,42857143	0,28571429	0,28571429	2	3,51219512	0,48780488	4
<i>Enterobacter kobei</i>	1,42857143	0,28571429	0,28571429	2	7,02439024	0,97560976	8
<i>klebsiella oxytica</i>	4,28571429	0,85714286	0,85714286	6	7,90243902	1,09756098	9
<i>klebsiella oxytica</i> - <i>Enterobacter cloacae</i>	0	0	0	0	1,75609756	0,24390244	2
<i>klebsiella oxytica</i> ( <i>Raultella</i> )	0	0	0	0	2,63414634	0,36585366	3
<i>klebsiella pneumoniae</i>	0	0	0	0	0,87804878	0,12195122	1
<i>Mycoplasma arginini</i>	0	0	0	0	0,87804878	0,12195122	1
<i>Pseudomona</i> <i>synxantha</i>	0,71428571	0,14285714	0,14285714	1	1,75609756	0,24390244	2
<i>Pseudomonas</i> <i>koreensis</i>	0,71428571	0,14285714	0,14285714	1	0	0	0
<i>Pseudomonas</i> <i>oryzihabitans</i>	0,71428571	0,14285714	0,14285714	1	0,87804878	0,12195122	1
<i>Serratia liquefanciens</i>	2,14285714	0,42857143	0,42857143	3	2,63414634	0,36585366	3
<i>Serratia marcescens</i>	0,71428571	0,14285714	0,14285714	1	0	0	0
<i>serratia marcescens</i> - <i>Citrobacter freundii</i>	0	0	0	0	0,87804878	0,12195122	1
<i>Stenotrophomonas</i> <i>maltophilia</i>	0	0	0	0	0,87804878	0,12195122	1
<b>Totales</b>	15	3	3	21	36	5	41

En la tabla que se muestra a continuación se muestran los datos

necesarios para relacionar las variables según la prueba de Chi Cuadrado:

tabla 7	Diagnóstico						
Cálculo Fórmula	Dientes				Implantes		
Bacteria	G	Pcm	Pcs	total	MC	PI	Total
<i>Acinetobacter lwoffii</i>	0	0	0		0,03387534	0,24390244	
<i>Citrobacter freundii</i>	0	0	0		0,01693767	0,12195122	
<i>Enterobacter cloacae</i>	0,25714286	0,57142857	3,57142857		0,03387534	0,24390244	
<i>Enterobacter cloacae complex</i>	0,22857143	0,28571429	0,28571429		0,06775068	0,48780488	
<i>Enterobacter kobei</i>	0,22857143	0,28571429	0,28571429		0,13550136	0,97560976	
<i>klebsiella oxytica</i>	0,11904762	0,02380952	0,85714286		0,15243902	1,09756098	
<i>klebsiella oxytica - Enterobacter cloacae</i>	0	0	0		0,32554201	2,34390244	
<i>klebsiella oxytica (Raultella)</i>	0	0	0		0,05081301	0,36585366	
<i>klebsiella pneumoniae</i>	0	0	0		0,87804878	6,32195122	
<i>Mycoplasma arginini</i>	0	0	0		0,87804878	6,32195122	
<i>Pseudomona synxantha</i>	0,11428571	0,14285714	0,14285714		0,03387534	0,24390244	
<i>Pseudomonas koreensis</i>	0,11428571	0,14285714	0,14285714		0	0	
<i>Pseudomonas oryzihabitans</i>	0,71428571	0,14285714	5,14285714		0,87804878	6,32195122	
<i>Serratia liquefanciens</i>	0,00952381	0,76190476	0,42857143		0,15266486	1,09918699	
<i>Serratia marcescens</i>	0,71428571	5,14285714	0,14285714		0	0	
<i>serratia marcescens-Citrobacter freundii</i>	0	0	0		0,01693767	0,12195122	
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	0	0	0		0,01693767	0,12195122	
<b>Totales</b>	2,5	7,5	11		3,6712963	26,4333333	

Total Xi cuadrado

21

Total Xi cuadrado

30,1046296

Según los datos obtenidos para las variables Diagnóstico en dientes contra bacteria, se halló que: El valor de Chi Cuadrado de contraste (21); el Chi Cuadrado crítico (26,296) tomando como grados de libertad de 16, con un nivel de significancia de 0,05.

Como 21 es menor que 26,296 se acepta la hipótesis nula ( $H_0$ ) es decir, no existe una relación entre el Diagnóstico Periodontal y las Enterobacterias. Lo cual nos expone que las dos variables (Diagnóstico Periodontal contra Enterobacterias) en estudio son independientes.

Ahora según los datos obtenidos para las variables Diagnóstico en implantes contra bacterias, se halló que: El valor de Chi Cuadrado de contraste (30); el Chi Cuadrado crítico (23,685) tomando como grados de libertad de 14, con un nivel de significancia de 0,05.

Como 30 es mayor que 23,685 se rechaza la hipótesis nula ( $H_0$ ) y se acepta la hipótesis alternativa ( $H_a$ ) es decir: sí existe una relación entre el diagnóstico en implantes y las enterobacterias; lo cual nos expone que las dos variables (Diagnóstico Periimplantar contra Enterobacterias) en estudio están relacionadas.

Según lo anterior, se puede establecer que las enterobacterias no están relacionadas con la enfermedad periodontal en los pacientes parcialmente edéntulos que participaron en el estudio; pero si tendrían una relación con la enfermedad periimplantar tanto en pacientes edéntulos como en pacientes parcialmente edéntulos, asumiendo así, que la existencia de enterobacterias si pudiera llegar a desencadenar enfermedad periimplantar.

Estos resultados pueden ser explicados debido a que el número de muestras en cada caso (número de muestras de dientes adyacentes a los implantes y número de muestras de implantes) fue diferente. El numero de muestras de dientes adyacentes al ser menor, hace que disminuyan las asociaciones que el numero de muestras de implantes, mientras que en el caso de los



implantes por ser una muestra mayor, permite mayor número de asociaciones.

Al ser muestras tan heterogéneas no permite correlacionar en su totalidad los datos obtenidos en implantes y los datos obtenidos en dientes, debido a que por un lado no todos los datos están compartidos en ambos grupos y por otro lado, el número de muestras y los datos obtenidos en cada grupo es diferente, lo que no permite asociarlos.

## 9. DISCUSION

La presencia de placa bacteriana es un factor que predispone a la aparición de enfermedades en los tejidos que rodean el diente y el implante. Como es bien sabido son enfermedades que resultan homólogas, como se propuso en el Séptimo Consenso Europeo de Periodoncia en el 2011(3), donde definen la Mucositis periimplantar como la respuesta de los tejidos alrededor del implante a la colonización bacteriana; la cual no difiere de la Gingivitis, que es la etapa inicial de la respuesta del huésped a la biopelícula(12). Ambas entidades resultan reversibles, pero como lo describe Salvi y colaboradores en el 2012, se requieren de periodos superiores a 3 semanas para devolver la salud a los tejidos después de iniciarse un correcto control de placa (27)

El Séptimo Consenso Europeo de Periodoncia(3) también hace referencia a la Periimplantitis como una lesión que afecta la mucosa y el hueso de soporte, teniendo un comportamiento similar a la Periodontitis. Berglundh en el 2011 (6), en modelos animales ubicando unas ligaduras en el área cervical submucosa de dientes e implantes, facilitando la formación de la biopelícula y desencadenando lesiones de Periodontitis y Periimplantitis, reporta como hay un comportamiento similar en ambas patologías.(3,13)

Las Enterobacterias son una familia heterogénea y amplia de bacilos Gram negativos que forman parte de la flora normal gastrointestinal de un individuo sano, por lo general sin causarle enfermedad. Con frecuencia aparecen como microorganismos oportunistas en pacientes hospitalizados y con compromiso inmunológico, provocando un número considerable de infecciones, principalmente en la orofaringe, el aparato genitourinario y la piel. Las fimbrias son de sus principales factores de virulencia, porque gracias a ellas, se pueden adherir a los epitelios. De allí la importancia del su estudio en cavidad oral.(6,19).

*Klebsiella* spp. pertenecen al reino *Bacteria*, al filo *Proteobacteria*, la clase *Gammaproteobacteria*, orden *Enterobacteria* familia *Enterobacteriaceae*. Son bacterias de la flora normal gastrointestinal. Se consideran oportunistas porque aprovechan el debilitamiento del sistema inmune y están asociadas a enfermedades nosocomiales, tales como: infecciones respiratorias, urinarias, neumonía, entre otras. Son bacilos Gram (-), anaerobios facultativos, crecen en diversos medios de cultivo, se reproducen mejor entre 30 y 37<sup>a</sup> C , son catalasa, y ureasa positivas; y son fermentados de lactosa, por lo tanto son capaces de generar ácidos fuertes en su proceso metabólico. Se puede encontrar en humanos y animales, principalmente en la nasofaringe, tracto gastrointestinal y las heces (54,31).

Se sabe que están presentes en forma natural en algunos ambientes acuáticos, y pueden multiplicarse y alcanzar grandes concentraciones en aguas ricas en nutrientes, como residuos de fabricas de papel, plantas de acabado textil y en las plantas de procesamiento de caña de azúcar. Estos microorganismos pueden proliferar en sistemas de distribución de agua, y se sabe que colonizan las arandelas de los grifos. (55)

Dentro de las especies que se aislaron se encuentran algunas que pertenecen al grupo de los coliformes el cual está formado por los siguientes géneros: *Escherichia*, *Klebsiella*, *Enterobacter* y *Citrobacter*, de los cuales ninguna del género *Escherichia* fue aislada(54).

Las especies del género *Klebsiella* importantes en la salud humana son *K. pneumoniae*, *K. oxytoca* *K. ozanae*, y *K. rhinoscleromatis*, siendo las dos primeras las principales asociadas a las infecciones en el hombre y las dos que se pudieron aislar en este estudio. *K. oxytoca* fue el microorganismo que se encontró con

mayor frecuencia en el estudio, tanto en enfermedad periodontal, como en enfermedad periimplantar(6,9,11,12,13)

*Enterobacter* spp es un bacilo Gram negativo, anaerobio facultativo de la familia de las *Enterobacteriaceae*, se encuentra principalmente en el intestino humano y de algunos animales. Con frecuencia se encuentra en materia fecal, aguas residuales y alcantarillado. Son denominados como microorganismos nosocomiales oportunistas, encontrados por lo general en compañía de *Klebsiella* spp y *Escherichia coli*(56). Existen 14 especies de *Enterobacter*, pero el *E. aerogenes*, *E. cloacae*, *E. kobeii*, y *E. sakazakii* son los más importantes en infecciones humanas. Del género *Enterobacter*, se aislaron *E. cloacae*, *E. kobeii*. (56,29,31).

Dentro de la identificación se logró aislar *Enterobacter cloacae complex*, cuyas especies son ampliamente encontrados en diferentes ambientes de la naturaleza, pero pueden actuar como patógenos oportunistas en situaciones clínicas que comprometen el sistema inmune. Los estudios bioquímicos y moleculares en *E. cloacae complex* han demostrado que comprende seis especies: *Enterobacter cloacae*, *Enterobacter kobei* *Enterobacter asburiae*, *Enterobacter hormaechei*, *Enterobacter ludwigii* y *Enterobacter nimipressuralis*, y *Enterobacter hormaechei*, siendo los dos primeros los más frecuentemente aislados en humanos. Se han asociado como causantes de infecciones nosocomiales del torrente sanguíneo (47,57).

Diversos estudios han reportado pequeñas variaciones entre las especies, y debido a que la identificación fenotípica de las especies pertenecientes a este grupo es difícil por su similitud, se emplean los métodos moleculares para su correcta identificación(57).

*Citrobacter spp* son bacilos Gram (-) aerobios con capacidad de fermentar lactosa. Se encuentran en el agua, el suelo, la comida, vegetación y como flora saprófita en el intestino de hombre. Se trata de microorganismos ubicuos que son causa frecuente de infecciones importantes, especialmente en pacientes inmunodeprimidos. Se encuentran comúnmente en unidades de cuidados intensivos, y están asociadas con infecciones urinarias, meningitis neonatal y abscesos cerebrales. Debido a que su proceso de adaptación es muy amplio, principalmente colonizando el intestino; en algunos casos puede estar en simbiosis con otros microorganismos o causando algún otro cuadro infeccioso. En la cavidad oral es poco probable encontrarla como un microorganismo usual, como lo describe Botero y colaboradores(58)

El género *Raoultella* es relativamente reciente y guarda similitudes con su género predecesor *Klebsiella*, siendo la *K. ornithinolytica* una de las que dio origen al género *Raoultella*, cambiando su nombre a *R. ornithinolytica*. Son bacilos encapsulados, anaerobios facultativos, los cuales se encuentran en el ambiente, en el suelo, en la corteza de árboles y en ambientes acuáticos. Están íntimamente relacionados con las intoxicaciones por consumo de pescado. Son aisladas con poca frecuencia en muestras humanas. En cavidad oral la *R. ornithinolytica* ha sido aislada de la dentina de los conductos radiculares infectados. Al guardar una amplia similitud con el género *Klebsiella*, en algunos casos no se puede llegar a realizar una identificación definitiva del género *Raoultella*, dando como resultado *Klebsiella*, siendo la más similar la *K. oxytoca*(59,60).

Los Sistemas de identificación bioquímicas comerciales no identifican de forma fiable al género *Raoultella*(59,60). La Identificación de especies *Raoultella* por MALDI-TOF MS también es problemática porque los espectros de masas de *R. planticola* y *R. ornithinolytica* son muy similares y se asemejan a los de *K. oxytoca*(59,60,61,62). Es probable que en la muestra de los pacientes que

resultaron positivos para *K oxytoca (raoutella)* haya sido una bacteria del genero *Raoutella*, la cual no pudo ser identificada con total certeza.

El género *Serratia* es un bacilo Gram (-) anaerobio facultativo, oxidasa negativo, que crece a temperaturas entre los 35 y 40 ° centigrados, preferiblemente en pH que varía entre 5 y 9. Los medios húmedos son los mas adecuados para el crecimiento de esta bacteria. Este género produce un pigmento rojo, denominado la prodigiosina, la cual permite diferenciarlos de los otros géneros de la familia *Enterobacteriaceae* (63,31) El género *Serratia* esta asociada a conjuntivitis, queratitits, infecciones de vías urinarias, meningitis, endocarditis e infecciones del tracto respiratorio inferior; siendo más frecuente en pacientes hospitalizados o con algún compromiso del sistema inmunológico. Dentro de las cepas de de este género se encuentran *Serratía phymuthica*,, *Serratia rubidaea*, *Serratia odoriferae*, *Serratia liquefaciens* y *Seratia marcenses*, estas dos última es la más común encontrada en seres humanos(6,17,29).

*Pseudomonas* es un bacilo Gram negativo, aerobio no fermentador de lactosa, crece a temperaturas que varían entre 18°C a 42°C, es oxidasa negativa y catalasa positiva. Son bacilos Gram negativo, móviles por la presencia de un flagelo polar, el cual no es visible en tinción de Gram. Para el flagelo se usa la tinción Leifson-Clarck, cuando las pruebas bioquímicas no son suficientes para identificarla. Son bacterias que se encuentran en los suelos, cuya labor principalmente esta asociada a la descomposición de la materia orgánica. Son consideradas bacterias oportunistas, asociadas a infecciones nosocomiales, y muchas de las especies como la *P. aeruginosa*, la *P pútrida*, *P. syringae* *P oryzihabitans* son comúnmente encontradas en el agua de las casas y también están asociadas a infecciones en el oído, los ojos(64) .

Especies como la *P. Koreensis* y la *P sinxantha* son poco comunes en los aislamientos bacterianos de infecciones en seres humanos, pero están asociadas

a contaminación del agua. En este estudio, la *Pseudomona* no fue aislada con una alta frecuencia.(55,58,64,65)

*Acinetobacter* spp pertenece al reino: bacteria, al filo: *Proteobacteria*, la Clase: *Gammaproteobacteria*, el Orden: *Pseudomonadales* y la familia: *Moraxellaceae*. Es un coccobacilo Gram-negativo no fermentador, aerobio, oxidasa negativo, encontrado con frecuencia la piel humana. Dentro de las infecciones asociadas al *Acinetobacter* spp incluyen bacteremias, neumonías, meningitis, infecciones urinarias, infecciones relacionadas con catéteres intravasculares, abscesos abdominales e infecciones de herida quirúrgica. Es comúnmente encontrado en las unidades de cuidados intensivos, siendo un microorganismo oportunista, aprovechando la respuesta inmune disminuida para atacar. Entre las especies de *Acinetobacter* spp, la que con mayor frecuencia se asocia a infecciones humanas con relevancia clínica son *Acinetobacter baumannii* *Acinetobacter haemolyticus*, *Acinetobacter johnsonii*, y *Acinetobacter Iwoffii*. Se ha demostrado que el tracto digestivo es el mayor reservorio de *Acinetobacter*. El *Acinetobacter iwoffii* fue el microorganismo que se obtuvo en muestras de un paciente edentulo total con síndrome de Sjögren. (66)

*Stenotrophomonas maltophilia*, pertenece al reino: bacteria, al filo: *Proteobacteria*, la clase: *Gammaproteobacteria*, orden: *Xanthomonadales*, familia: *Xanthomonadaceae*, al género *Stenotrophomonas* y la especie *S. maltophilia* fue la que se aisló en el estudio. Es un bacilo Gram-negativo, constituye una causa cada vez mas importante de enfermedad nosocomial, aunque es considerado un microorganismo de baja virulencia, cuando produce infeccion, puede ser difícil de tratar debido a su resistencia a múltiples antibioticos. Al ser un microorganismo patógeno poco virulento con frecuencia resulta difícil decidir si causa una infeccion. Son altamente oportunistas por lo que es difícil definir el pronóstico de las enfermedades asociadas a su presencia. Existen muy pocos estudios que

describan su influencia clínica debido a su bajo poder virulento. Los estudios que existen están relacionados con pacientes, que por su situación, pueden tener alterado su sistema inmune; como el casos de pacientes con cáncer o que se encuentren unidades de cuidados intensivos (67).

El género Género *Mycoplasma* presenta la siguiente taxonomía, pertenece al Dominio: *Bacteria* , el Filo: *Firmicutes* o *Tenericutes*, la Clase: *Mollicutes*., el Orden: *Mycoplasmatales* y la Familia: *Mycoplasmataceae*. Son Bacterias que carecen de pared celular, por tal motivo, son resistentes a los antibiótico que atacan la pared como la penicilina y otros antibióticos betalactámicos. A pesar de ello, las formas de estas células a menudo se ajustan a distintos grados de complejidad., lo que puede eventualmente servir al *Mycoplasma* para proliferar en diferentes ambientes. Son microorganismos oportunistas, que están asociados a la neumonía atípica, en especial el *Mycoplasma pneumoniae*. Las células de *Mycoplasma* tienen forma redondeada y poseen una extensión puntiaguda sobresaliente, que está involucrada en la adhesión a la célula. En estudios se ha observado la adhesión del *Mycolpasma* a las células epiteliales del huésped, lo que podría explicar su aparición en las áreas circundantes a la boca, como la nasofaringe, de donde podrían avanzar a la cavidad oral y colonizarla(68).

Las especies encontradas con mayor frecuencia de este microorganismo en cavidad oral son el *Mycoplasma salivarium* y *Mycoplasma fermentans* los cuales están asociados en enfermedad periodontal (69), pero no en efermedad periimplantar. La especie *Mycoplasma arginini* esta asociado con neumonía en animales de granja como ovejas, cabras y en animales domésticos como perros y gatos; lo que lleva a asociarlo con zoonosis. En enfermedad periodontal no se han tenido aislamientos positivos para *Mycoplasma* (70).

Los resultados generales de este estudio muestran que ninguno de los pacientes tenia salud periodontal, ni periimplantar. Fue un grupo con condiciones



heterogéneas. Respecto a la edad, se observó que tiene una tendencia a ser adultos mayores, debido a que la edad media fue de 60,4 años; similar a la recogida en estudios clínicos similares de tratamiento de Mucositis (51). La población masculina fue aproximadamente un cuarto (23%) de la población general de estudio, lo que sustenta el hecho que las mujeres se preocupan mas por su salud que los hombres y tienen una menor susceptibilidad a la enfermedad periodontal.(52,53).

Como se observa en la gráfica 9 para enfermedad periimplantar discriminada por sexo, se observa que la incidencia de Periimplantitis tanto en hombres como en mujeres fue similar al igual que en las gráfica 18 para enfermedad periodontal, los porcentajes obtenidos para Gingivitis y Periodontitis crónica moderada y severa fueron similares en el grupo de los hombres, comparado con el grupo de mujeres; lo que supone que el sexo no es un factor predisponente para la aparición de la enfermedad tanto en los tejidos periodontales como en los tejidos periimplnatares (10)

Para el total de las muestras de enfermedad periodontal, el 39% fueron positivas para enterobacterias. En enfermedad periimplantar, el 40% presentaba microorganismos entéricos; lo cual se puede comparar con el estudio de Botero y colaboradores en el 2005 en la ciudad de Cali (9), en el cual se obtuvo una prevalencia de enterobacterias del 38,07% en enfermedad periimplantar. Los resultados obtenidos por Lafaurie en el 2007, donde para enfermedad periodontal se encontró un 34.5% de prevalencia de enterobacterias(8) y Ardila en el 2010 que encontró una prevalencia de bacteriaas entéricas en Colombia del 36%(30); los datos de estos dos estudios se acercan a los obtenidos en este trabajo.

En las muestras aisladas de pacientes parcialmente edéntulos se observa que *Klebsiella oxytoca* en implantes tuvo una prevalencia del 22% comparada con 27%

obtenida en dientes adyacentes, y este microorganismo es el que se aisló con mayor frecuencia en las muestras. Se comparten otros 8 microorganismos entre enfermedad periodontal y enfermedad periimplantar los cuales son *Enterobacter kobei*, *Enterobacter cloacae*, *Enterobacter cloacae complex*, *Pseudomona koreensis*, *Pseudomona oryzihabitans*, *Pseudomona synxantha*, *Serratia liquefaciens* y *Serratia marcescens*, los cuales han sido aislados en estudios similares, tanto en enfermedad periimplantar (5,9,15,28,41), como en enfermedad periodontal (6,7,8,17,19,20,30,41). Aunque el género *Enterobacter* ha estado reportado como usual en enfermedad periodontal y periimplantar, el *E. kobei* no se encuentra descrito dentro de estos artículos. Estas similitudes en la flora podría sustentar la teoría que las bacterias entéricas migran desde los surcos periodontales afectados hacia el surco periimplantar para colonizarlo (11). Esta especie al ser similares, corroboran que puede existir una similitud en ambas enfermedades (2,3,6,10).

En este estudio se encontraron además otros microorganismos en Mucositis, los cuales no estuvieron presentes ni en Periimplantitis, ni en enfermedad periodontal. Se identificó la *K. oxytoca* (*Raoultella*), la cual no se encuentra descrita en enfermedad periodontal ni periimplantar. La asociación entre *K. oxytoca* con *E. cloacae* y *Citrobacter freundii* con *Serratia marcescens*, aparecieron en pacientes con Mucositis pero no fueron asociadas a enfermedad periimplantar, están descrita en la literatura como una asociaciones usuales entre estos dos patógenos en infecciones nosocomiales, pero no en las entidades que afectan los tejidos del soporte de implantes y dientes.

Para los pacientes con Periimplantitis se aislaron *Klebsiella pneumoniae*, *Serratia liquefanciens*, una asociación entre *Klebsiella oxytoca* y *Enterobacter cloacae* y *Mycoplasma arginini*. Los tres primeros están reportados como presentes en

enfermedad periodontal y periimplantar, coincidiendo con la literatura (5,6,7,8,9,15,17,19,20,28,30,41).

En los artículos revisados para enfermedad periodontal y periimplantar aparece el *Mycoplasma salivarium* como flora normal en la boca. El *Mycoplasma arginini* no aparece aislado para muestras de Periimplantitis, ni Periodontitis. En este estudio una paciente con Periimplantitis y sin compromiso sistémico que pudieran asociar la aparición, presentó *Mycoplasma*.

El *Enterobacter koreensis* se encontro en una muestra de un diente con Gingivitis. Existe una marcada diferencia entre las bacterias de los individuos parcial y totalmente edéntulos. Los patógenos periodontales se localizan en menor concentración en los surcos periimplantarios de los individuos totalmente edéntulos. Esto podría indicar una susceptibilidad alta de Periimplantitis en los pacientes parcialmente edéntulas(10,11). No obstante, a pesar de que los patógenos de la enfermedad periodontal pueden colonizar rápidamente la superficie de los implantes, no significa que el implante tenga que desarrollar Periimplantitis(11).

Las especies *Enterobacter kobei*, *Acinetobacter iwoffii* y *Stenotrophomonas maltophilia* fueron aislados con una frecuencia de 2% 4% y 2% respectivamente. El primer microorganismo estuvo presente en una paciente edéntula total con diagnóstico de Mucositis. *A. iwoffii* y *S. maltophilia* estuvieron presentes en las muestras en una paciente edéntula total con diagnóstico de Mucositis periimplnatar que presenta además síndrome de Sjögren. La frecuencia de estos microorganismos no han sido descrita en estudios relacionados con enfermedad periimplantar, aunque si han sido asociados como bacterias superinfectantes en pacientes con Periodontitis crónica en Colombia; con una frecuencia del 5.26% y el 15.79% respectivamente, según el estudio de Botero y colaboradores en el 2007(19).

El Síndrome de Sjögren (SS) es un trastorno autoinmune de las glándulas exocrinas con infiltración linfocítica en las glándulas afectadas. La xerostomía causada el Síndrome de Sjögren, esta asociada con sequedad progresiva de la boca, dificultad con la masticación, la deglución y el habla, el aclaramiento oral reducido, y un recambio en flora. la disminución en la autoclisis y con el aumento en la adherencia bacteriana a la superficie debido a los factores protectores que tiene la saliva se encuentran ausentes o disminuidos, por lo que se aumenta la incidencia de problemas como caries y enfermedad periodontal. Es aún un tema controversial, debido a las diferentes posiciones respecto al riesgo que representa este síndrome, el cual según algunos autores los pacientes con xerostomía tienen un riesgo de enfermedad periodontal similar al de la población general, mientras que otras corrientes, afirman que con síndrome de Sjögren tienen un riesgo elevado a sufrir enfermedad periodontal, como lo refiere Kuru y colaboradores en el 2002, (71)

Actualmente los implantes no se encuentran contraindicados en condiciones sistémicas de base como la Artritis reumatoide o el lupus. Respecto al Síndrome de Sjögren la evidencia está limitada a series de casos y seguimientos a muy corto plazo y no existe una posición definida aún. Los últimos estudios han reportado que en seguimientos de pacientes con síndrome de Sjögren por mas de tres años el estado de los implantes ha sido favorable, presentando en su mayoría mucositis, sin perdidas óseas severas en los primeros años, aunque un estudio realizado por Krennmair y cols (72) en el 2010, reporta mayor incidencia periimplantitis y pérdidas óseas en pacientes son SS, sin llegar a ser concluyente; lo que soporta la necesidad de estudios a futuro que definan el pronostico de los implantes en pacientes con síndrome de Sjögren. Debido a que la incidencia de mucositis en pacientes con SS es mayor después de un tiempo, lo que podría resultar en mayor indice de periimplantitis en estos pacientes, por tal motivo se

hace necesario el trabajo interdisciplinario entre el Odontólogo y el Reumatólogo para tener un control minucioso de los pacientes.(73)

Haber obtenido datos microbiológicos similares entre dientes con enfermedad periodontal e implantes con enfermedad periimplantar, sustenta el hecho que algunos autores centren sus estudios en la etiología microbiana de la Periimplantitis.(10) Quirynen en el 2002 y Shibli en el 2008 reportan que en la microflora en tejidos periimplantarios sanos pueden encontrarse pequeñas concentraciones de bacilos Gram negativos anaerobios en algunos implantes (16,74).

Las enterobacterias consideradas microorganismos oportunistas y se ubican en diferentes hábitats del cuerpo humano, principalmente en la nasofaringe, la laringe, las amígdalas, el oído medio, en el tracto gastrointestinal e incluso los pulmones (54,55,58), donde pueden producir infecciones y debido a que la cavidad oral se encuentra comunicada con los tejidos de estas zonas anatómicas, podrían ser una explicación de la colonización de las bacterias entéricas en los tejidos periodontales y periimplantares.(6,9,10,41); razón por la cual, algunos autores han relacionado una respuesta inadecuada al tratamiento periodontal con la presencia de flora inusual en el surco periodontal y periimplantar(58).

La presencia de enterobacterias es más un fenómeno epidemiológico, debido a que su incidencia puede variar entre poblaciones(8,17,18). Es sabido que las enterobacterias no requieren condiciones muy específicas para su desarrollo, lo que le es favorable para crecer fácilmente en el surco periodontal y periimplantar(8,17,18, 54, 55, 58). Tienen metabolismos que se adaptan al medio y una gran habilidad para adherirse al entorno mediante la expresión de sus factores de virulencia, como las fimbrias; razones por las cuales se le debe dar especial importancia a la presencia de estas bacterias en la enfermedad periodontal y periimplantar, ya que su rol en la patogenia permanece indefinido(58).

Debido a que los dientes pueden actuar como un reservorio de bacterias que pueden colonizar los implantes, se debe realizar un correcto tratamiento periodontal en pacientes que serán tratados con implantes, el cual baje la carga bacteriana y devuelva la salud a los tejidos que rodean al diente (6,9,10,41).

Una vez colocados los implantes, los controles periódicos, la motivación del paciente y una correcta higiene oral podría asegurar una salud a largo plazo, debido a que se baja la carga bacteriana, evitando así la aparición de signos de inflamación y la progresión de la enfermedad. Dependiendo de la adherencia del paciente al tratamiento se deberán cuadrar las revaluaciones y mantenimientos de los implantes(75, 76).

La población mayor, se incrementa de manera notable a nivel mundial y nuestro país no es la excepción. Las personas tienen un riesgo mayor de desarrollar enfermedades crónicas de la boca que incluyen infecciones como la Caries y la Periodontitis, la pérdida de dientes, entre otras. Una de las condiciones que aparecen con mayor frecuencia en esta población mayor son la xerostomía, la cual está asociada a medicamentos como antidepresivos tricíclicos, los antiparkinsonianos, las benzodiacepinas. los anticolinérgicos, los antihipertensivos, los antihistamínicos, los antipsicóticos, y los diuréticos. Estos últimos son ampliamente usados para el tratamiento de algunas enfermedades sistémicas. Como resultado de esta patología, la producción de saliva se ve reducida. Los pacientes con xerostomía es probable que sean propensos a desarrollar infecciones orales; por esta razón es muy importante el papel del odontólogo en el mantenimiento de la salud oral. (64, 77).

## **10. CONCLUSIONES:**

Se puede concluir que la identificación de enterobacterias similar entre dientes e implantes, podría sugerir una migración de las bacterias entéricas desde los tejidos periodontales hacia los implantes. El cambio drástico de las especies encontradas en los implantes de pacientes parcialmente edéntulos y los edéntulos totales, supone que al perder los dientes, la variación en la microflora oral, resultaría menos patológica. El aislamiento bacterias que no habían sido reportadas en la literatura, resulta importante en este estudio porque abre las posibilidades para futuras investigaciones.

Se sugiere que a partir de este estudio se debería realizar un trabajo que evalúe las bacterias después del tratamiento periimplantar, para observar los beneficios que pudiera tener el correcto mantenimiento en el éxito de los implantes a futuro.

## 11. BIBLIOGRAFÍA

1. Sánchez-Garcés MA, Gay-Escoda C. Periimplantitis. Med Oral Patol Oral Cir Bucal 2004;9 Suppl :S63-74.
2. Lang NP. How do we detect Periimplantitis? Fórum Implantologicum.2013: 9(1);7-11.
3. Lang NP, Berglundh T on Behalf of Working Group 4 of the Seventh European Workshop on Periodontology: Periimplant diseases: where are we now? – Consensus of the Seventh European Workshop on Periodontology. J Clin Periodontol. 2011; 38 (11); 178–181.
4. Mombelli A. Cionca N. Prevalence of Periimplantitis: How Big is the problem? Fórum Implantologicum.2013: 9(1); 12-17.
5. Belibasakis G. Microbiological and Immuno-pathological aspects of peri-implant diseases. Arch Oral Biol. 2014; 59; 66-72.
6. Martínez-Pabón M.C, Isaza-Guzmán D.M, Mira-López N.R, García-Vélez C, Tobón-Arroyave S. Screening for subgingival occurrence of gram-negative enteric rods in periodontally diseased and healthy subjects. Archives of Oral Biology.2010;55; 728-736.
7. Ardila C, Fernández N, Guzmán I.C. Antimicrobial Susceptibility of Moxifloxacin Against Gram-Negative Enteric Rods From Colombian Patients With Chronic Periodontitis. J Periodontol. 2009;81(2); 292-299.



8. Lafaunie G.I, Contreras A, Barón A, Botero J, Mayorga-Fayad I, Jaramillo A, Giraldo A, González F, Mantilla S, Botero A, Archila L.H, Díaz A, Chacón T, Castillo D.M, Betancourt M, Aya M, Arce R. Demographic, Clinical, and Microbial Aspects of Chronic and Aggressive Periodontitis in Colombia: A Multicenter Study. *J Periodontol.* 2007;78(4);629-639.
  
9. Botero J.E, González A.M, Mercado R.M, Olave G, Contreras A. subgingival Microbiota in Peri-implant Mucosa lesions and Adjacent Teeth in Partially Edentulous Patients. *J Periodontol.* 2005;76(9); 1490-1495.
  
10. Delgado-Molina E, Sánchez-Garcés MA, Rumeu-Milá J, Berini-Aytés L, Gay-Escoda C. Enfermedad periimplantaria. Etiología, fisiopatología y diagnóstico. Revisión de la literatura. *Arch Odontoestomatol* 1999;15:53-67.
  
11. Quinteros-Borgarello M, Delgado-Molina E, Sánchez-Garcés MA, Berini-Aytés L, Gay-Escoda C. Estudio microbiológico de la periimplantitis: presentación de 9 casos clínicos. *Av Periodon Implantol* 2000;12:137-50.
  
12. Lang NP, Bosshardt DD, Lulic M. Do mucositis lesions around implants differ from gingivitis lesions around teeth? *J Clin Periodontol* .2011: 38 (11); 182–187.
  
13. Berglundh T, Zitzmann NU, Donati M. Are peri-implantitis lesions different from periodontitis lesions? *J Clin Periodontol.* 2011: 38(11); 188–202.
  
14. Quirynen M, Vogels R, Pauwels M, Haffajee AD, Socransky SS, Uzel NG, et al. Initial subgingival colonization of ‘pristine’ pockets. *J Dent Res.* 2005;84(4); 340–4.

15. Mombelli A, De´caillet F. The characteristics of biofilms in peri-implant disease. J Clin Periodontol. 2011; 38 (11); 203–213.
16. Quirynen M, De Soete M, van Steemberhe D. Infectious risks for oral implants: A review of the Literature. Clin Oral Impl Res. 2002;13; 1-19.
17. Barbosa F., Mayer M., Saba-Chujfi E. Cai S. Subgingival occurrence and antimicrobial susceptibility of enteric rods and *Pseudomonas* from Brazilian periodontitis patients. Oral Microbiol Immunol. 2001;16(5);306-10.
18. Ali RW, Bakken V, Nilsen R, Skaug N. Comparative detection frequency of six putative periodontal pathogens in Sudanese and Norwegian adult periodontitis patients. J Periodontol. 1994;65;1046-52.
19. Botero J, Contreras A, Lafaurie G, Jaramillo A, Betancourt A, Arce R. Occurrence of peridontopathic and superinfecting bacteria in chronic and aggressive Periodontitis subjects in a Colombian Population. J Periodontol. 2007;78; 696-704.
20. Mayorga-Fayad I, Lafaurie G, Contreras A, Castillo D, Barón A, Aya M.R. Microflora subgingival en Periodontitis crónica y agresiva en Bogotá, Colombia: un acercamiento epidemiológico. Biomédica.2007;27;21-33.
21. Listgarten MA. Clinical trials of endosseous implants: issues in analysis and interpretation. Ann Periodontol .1997;2(1); 299–313.
22. Albrektsson T SL, Wennerberg A. . State of the art of oral implants. Periodontol 2000. 2008;47;15-26.

23. Socransky SS, Haffajee AD, Cugini MA, Smith C, Kent Jr. RL: Microbial complexes in subgingival plaque. *J Clin Periodontol* 1998; 25; 134-144.
24. Renvert, S., Lindahl, C., Renvert, H. & Persson, G. R. Clinical and microbiological analysis of subjects treated with Branemark or AstraTech implants: a 7-year follow-up study. *Clin Oral Implant Res.* 2008;19; 342–347.
25. Busscher HJ, Rinastiti M, Siswomihardjo W, van der Mei HC. Biofilm formation on dental restorative and implant materials. *J Dent Res.* 2010;89(7):657–65.
26. Hahnel S, Wieser A, Lang R, Rosentritt M. Biofilm formation on the surface of modern implant abutment materials. *Clin Oral Implants Res.* 2015;26(11): 1297–301.
27. Salvi GE, Aglietta M, Eick S, Sculean A, Lang NP, Ramseier C a. Reversibility of experimental peri-implant mucositis compared with experimental gingivitis in humans. *Clin Oral Implants Res.* 2012;23(2):182–90.
28. Listgarten M, Lai CH. Comparative Microbiological characteristics of Failing implants and periodontally diseased teeth. *J Periodontol.* 1999;70; 431-437.
29. Consuegra J, Gutiérrez S, Jaramillo A, Sanz I, Olave G, Soto JE, Valencia C, Contreras A. Bacilos Gram negativos entéricos y no fermentadores de la glucosa en pacientes con enfermedad periimplante. *Biomédica.* 2011; 31; 21-26.
30. Ardila Medina CM. Efecto de las enterobacterias en pacientes con periodontitis crónica. *Av Periodon Implantol.* 2010; 22 (1); 27-35.

31. Livreli V, De Champs C, Di Martino P, Darfeuille-Michud A, Forester C, Joly B. Adhesive Properties and Antibiotic Resistance of *Klabsiella*, *Enterobacter*, and *Serratia* Clinical Isolates Involved in Nosocomial Infections. J Clin Microbiol. 1996: 1963-1969.
32. Li Z, Clarke A. Beveridge T. Gram. Negative Bacteria Produce Membrane Vesicles Which Are Capable Of Killing Other Bacteria. J Bacteriol. 1998: 5478-5483.
33. Ponniah A, Endres R, Hasty D, Abraham S. Fragmentation od Escherichia coli Type 1 Fimbriae Exposes Cryptic D-Mannose-Binding Sites. J Bacteriol. 1991: 4195-4202.
34. Faure E. Equlist O, Sielings P, Thomas L, Zhang F, Kirsching C, Polentarutti N, Muzio M, Arditi M. Bacterial Lipopolyascharide Activates NF-kB Throught Toll-like Receptor 4 (TLR-4) in Cultured Human Dermal Endotelial Cells. J Biol Chem.275(15);11058-11063.
35. Soult M, Lonergan N, Shah B, Kim W, Britt L, Sullivan C. Outer membrane vesicles from pathogenic bacteria initiate an inflammatory response in human endothelial Cells. J Surg Res. 2013;184;458-466.
36. Amano A. Host-Parasite Interactions in Periodontitis: Subgingival Infection and Host Sensing. Periodontol 2000. 2010;52;7-11.
37. Tribble G. Lamont R. Bacterial Invasion of Epithelial Cells and spreading in periodontal tissue. Periodontol 2000. 2010;52;68-83.

38. Lewis J. Metal uptake in host. Pathogen interactions: role of iron in pophyromonas gingivalis interactions with host organisms. Periodontol 2000. 2010;52:94-116.
39. Feng Z, Weinberg A. Role of bacteria in health and disease of periodontal tissues. Periodontol 2000. 2006;40;50-76.
40. Strober W, Kelsall B, Marth Y. Oral Tolerance. J Clin Immunol. 1998; 18; 1-30.
41. Quirynen M, Teughels W. Microbiologically comprised patients and impact on oral implants. Periodontol 2000.2003;33;119-128.
42. Kuboniwa M, Lamont R. Subgingival biofilm formation. Periodontol 2000, 2010;52;38-52.
43. Legarraga P, Moraga M, Lam M. Impacto de la espectrometría de masas por MALDI-TOF MS en la identificación rápida de bacterias aeróbicas y anaeróbicas de importancia clínica. Rev Chil infectología. 2013;30(2):140–6.
- 44 .Santos AF, Schandert L, Gales AC. Evaluation of MALDI-TOF MS in the microbiology laboratory. J Bras Patol Med Lab. 2013;49(3):191–7.
45. Houk KN, Angeles L, Hunter CA, Krische MJ, Ley S V, Olivucci M, et al. Applications of MALDI-TOF Spectroscopy. Topics in Current Chemistry, Biochemistry. 2013.
46. Intelicato-Young J, Fox A. Mass spectrometry and tandem mass spectrometry characterization of protein patterns, protein markers and whole proteomes for pathogenic bacteria. J Microbiol Methods. 2013;92(3):381–6.

47. Pavlovic M, Konrad R, Iwobi AN, Sing A, Busch U, Huber I. A dual approach employing MALDI-TOF MS and real-time PCR for fast species identification within the *Enterobacter cloacae* complex. *FEMS Microbiol Lett.* 2012;328(1): 46–53.
48. Clark AE, Kaleta EJ, Arora A, Wolk DM. Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization-Time of Flight Mass Spectrometry: a Fundamental Shift in the Routine Practice of Clinical Microbiology. *Clin Microbiol Rev* [Internet]. 2013;26(3):547–603.
49. Negroni M. *Microbiología Estomatológica*. 2a Ed. Argentina. Editorial Panamericana. 2010.
50. Prieto J. Navarro J. de la Rosa M. *Microbiología en ciencias de la salud : conceptos y aplicaciones*. 3a. Ed. España. Elsevier. 2011
51. Porras R, Anderson GB, Caffesse R, Narendran S, Trejo PM. Clinical response to 2 different therapeutic regimens to treat peri-implant mucositis. *J Periodontol* 2002;73:1118-25.
52. Franch F LF, Bascones A. Evidencia microbiana de la periimplantitis, factores de riesgo coadyuvantes, diagnóstico y tratamiento según los protocolos científicos. *Av Periodon Implantol*. 2004;16(3):143-56.
53. Steigenga JT A-SK, Nociti F, Misch C, Wang H. Dental Implant Design and Its relationship to Long-Term Implant Success. *Implant Dent*. 2003;12:306-17.
54. Podschun R, Ullmann U. *Klebsiella* spp. as nosocomial pathogens: Epidemiology, taxonomy, typing methods, and pathogenicity factors. *Clin Microbiol Rev*. 1998;11(4):589–603.

55. Gutierrez D, Hernández A, Corrales L. *Pseudomonas oryzihabitans* : un microorganismo de creciente interés científico. Publicación Científica en Ciencias Biomédicas. 2009; 7(1):103–12.
56. Eugene Sanders WE, Sanders CC. Enterobacter spp.: Pathogens poised to flourish at the turn of the century. Clin Microbiol Rev. 1997;10(2):220–41.
57. Paauw A, Caspers MPM, Schuren FHJ, Leverstein-van Hall MA, Delétoile A, Montijn RC, et al. Genomic Diversity within the Enterobacter cloacae Complex. PLoS One 2008;3(8):e3018.
58. Betancourth M, Arce R, Botero J, Jaramillo A, Cruz C, Contreras A. Microorganismos inusuales en surcos y bolsas periodontales. Colomb Med. 2006;37(1):6–14.
59. Granier SA, Leflon-Guibout V, Goldstein FW, Nicolas-Chanoine MH. Enterobacterial repetitive intergenic consensus 1R PCR assay for detection of Raoultella sp. isolates among strains identified as Klebsiella oxytoca in the clinical laboratory. J Clin Microbiol 2003;41:1740–2.
60. Park JS, Hong KH, Lee HJ, Choi SH, Song SH, Song KH, et al. Evaluation of three phenotypic identification systems for clinical isolates of Raoultella ornithinolytica. JMedMicrobiol 2011;60:492–9.
61. de Jong E, de Jong AS, Smidts-van den Berg N, Rentenaar RJ. Differentiation of Raoultella ornithinolytica/planticola and Klebsiella oxytoca clinical isolates by matrix-assisted laser desorption/ionization-time of flight mass spectrometry. Diagn Microbiol Infect Dis. Elsevier Inc.; 2013;75(4):431–3.


62. García Lozano T, Aznar Oroval E, Pascual Plá FJ. Raoultella ornithinolytica en infecciones de las vías urinarias. Estudio clínico y microbiológico de una serie de 4 pacientes con neoplasias. Med.clin (Barc). 2013;141 (3):138–9.
63. Yu WL, Lin CW, Wang DY. *Serratia marcescens* bacteremia: clinical features and antimicrobial susceptibilities of the isolates. J Microbiol Immunol Infect 1998; 31(3):171-9).
64. Kwon SW, Kim JS, Park IC, Yoon SH, Park DH, Lim CK, et al. Pseudomonas koreensis sp. nov., Pseudomonas umsongensis sp. nov. and Pseudomonas jinjuensis sp. nov., novel species from farm soils in Korea. Int J Syst Evol Microbiol. 2003;53(1):21–7.
65. Chinchá O, Cornelio E, Valverde V. Infecciones intrahospitalarias asociadas a dispositivos invasivos en unidades de cuidados intensivos de un hospital nacional de Lima Perú. Rev Peru Med Exp Salud Publica. 2013;30(4):616–20.
66. Chao C-T, Lee S-Y, Yang W-S, Chen H-W, Fang C-C, Yen C-J, et al. Acinetobacter Peritoneal Dialysis Peritonitis: A Changing Landscape over Time. PLoS One. 2014;9(10).
67. del Toro MD, Rodríguez-Baño J, Martínez-Martínez L, Pascual Á, Pérez-Cano R, Perea EJ, et al. Características epidemiológicas, clínicas y pronósticas de la infección por Stenotrophomonas maltophilia. Enferm Infecc Microbiol Clin. 2006;24(1):4–9
68. Boslett B, Nag S, Resnick A. Detection and antibiotic treatment of Mycoplasma arginini contamination in a mouse epithelial cell line restore normal cell physiology. Biomed Res Int. 2014;2014:532105.



69. Shibata K, Kaga M, Kudo M, Dong L, Hasebe A, Domon H, et al. Detection of *Mycoplasma fermentans* in saliva sampled from infants, preschool and school children, adolescents and adults by a polymerase chain reaction-based assay. *Microbiol Immunol*. 1999;43(6):521–5.
70. Rebelo AR, Parker L, Cai HY. Use of high-resolution melting curve analysis to identify *Mycoplasma* species commonly isolated from ruminant, avian, and canine samples. *J Vet Diagn Invest*. 2011;23(5):932–6.
71. Kuru B, McCullough MJ, Yilmaz S, Porter SR. Clinical and microbiological studies of periodontal disease in Sjögren syndrome patients. *J Clin Periodontol*. 2002;29:92–102.
72. Krennmair G, Seemann R, Piehslinger E. Dental implants in patients with rheumatoid arthritis: clinical outcome and peri-implant findings. *J Clin Periodontol* 2010; 37:928–936.
73. Krennmair G, Seemann R, Piehslinger E. Dental implants in patients with rheumatoid arthritis: clinical outcome and peri-implant findings. *J Clin Periodontol* 2010; 37:928–936.
74. Shibli JA, Melo L, Ferrari DS, Figueiredo LC, Faveri M, Feres M. Composition of supra- and subgingival biofilm of subjects with healthy and diseased implants. *Clin Oral Implants Res*. 2008;19:975-82.
75. Jovanovic S. The management of peri-implant breakdown around functioning osseointegrated dental implants. *J Periodontol* 1993;64:1176-83.
76. Palmer R, Palmer P, Howe L. Complications and maintenance. *Br Dent J* 1999;187:653-8.

77. Sepúlveda-correa D, Giraldo-ramírez O, Agudelo-suárez AA. Oral health related quality of life in older adults assisting “ IPS Universitaria ” of Medellin and associated factors Artículos Artículos. Rev CES Odontol. 2013;26(1):10–23.

## ANEXO 1. Formato para la toma de muestras



UNIVERSIDAD  
NACIONAL  
DE COLOMBIA

POSGRADO DE PERIODONCIA

### FORMATO PARA TOMA DE MUESTRA

Nombre: \_\_\_\_\_

Identificación: \_\_\_\_\_

Recuento de Placa de O'Leary \_\_\_\_\_ %

Fecha de la Toma: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

Sexo: M\_F\_

Edad: \_\_\_\_\_ años.

Diente 1:				Diente 2:			
Sangrado	Surco	Diagnóstico	Sitio de muestra	Sangrado	Surco	Diagnóstico	Sitio de muestra
SI	MV CV DV	Mucositis	MV CV DV	SI	MV CV DV	Sano	MV CV DV
NO	DP/L CP/L MF/L	Perimplantitis	DP/L CP/L MF/L	NO	DP/L CP/L MF/L	Gingivitis Periodontitis	DP/L CP/L MF/L

Implante 3:				Implante 4:			
Sangrado	Surco	Diagnóstico	Sitio de muestra	Sangrado	Surco	Diagnóstico	Sitio de muestra
SI	MV CV DV	Mucositis	MV CV DV	SI	MV CV DV	Mucositis	MV CV DV
NO	DP/L CP/L MF/L	Perimplantitis	DP/L CP/L MF/L	NO	DP/L CP/L MF/L	Perimplantitis	DP/L CP/L MF/L

Implante 5:				Implante 6:			
Sangrado	Surco	Diagnóstico	Sitio de muestra	Sangrado	Surco	Diagnóstico	Sitio de muestra
SI	MV CV DV	Mucositis	MV CV DV	SI	MV CV DV	Mucositis	MV CV DV
NO	DP/L CP/L MF/L	Perimplantitis	DP/L CP/L MF/L	NO	DP/L CP/L MF/L	Perimplantitis	DP/L CP/L MF/L

Implante 7:				Implante 8:			
Sangrado	Surco	Diagnóstico	Sitio de muestra	Sangrado	Surco	Diagnóstico	Sitio de muestra
SI	MV CV DV	Mucositis	MV CV DV	SI	MV CV DV	Mucositis	MV CV DV
NO	DP/L CP/L MF/L	Perimplantitis	DP/L CP/L MF/L	NO	DP/L CP/L MF/L	Perimplantitis	DP/L CP/L MF/L

Implante 9:				Implante 10:			
Sangrado	Surco	Diagnóstico	Sitio de muestra	Sangrado	Surco	Diagnóstico	Sitio de muestra
SI	MV CV DV	Mucositis	MV CV DV	SI	MV CV DV	Mucositis	MV CV DV
NO	DP/L CP/L MF/L	Perimplantitis	DP/L CP/L MF/L	NO	DP/L CP/L MF/L	Perimplantitis	DP/L CP/L MF/L

Identificación de Enterobacterias en Pacientes con Enfermedad Perimplantar en una Población Bogotana


FORMATO PARA TOMA DE MUESTRA

Resultados: Fecha de Procesamiento: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

Diente 1		Diente 2		Implante 1	
Agar MacConkey	Identificación	Agar MacConkey	Identificación	Agar MacConkey	Identificación
Implante 2		Implante 3		Implante 4	
Agar MacConkey	Identificación	Agar MacConkey	Identificación	Agar MacConkey	Identificación
Implante 5		Implante 6		Implante 7	
Agar MacConkey	Identificación	Agar MacConkey	Identificación	Agar MacConkey	Identificación
Implante 8		Implante 9		Implante 10	
Agar MacConkey	Identificación	Agar MacConkey	Identificación	Agar MacConkey	Identificación

Identificación de Enterobacterias en Pacientes con Enfermedad Perilimplantar en una Población Bogotana

## ANEXO 2. Consentimiento Informado para la participación en el estudio

 <b>UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA</b> SEDE BOGOTÁ FACULTAD DE ODONTOLOGÍA POSTGRADO DE PERIODONCIA				
<b>CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA PROCEDIMIENTO DE TOMA DE MUESTRA Y CULTIVO DE PERIODONTOPATÓGENOS COMO PARTE DEL ESTUDIO <i>"Identificación de Enterobacterias en Pacientes con Enfermedad Periimplantar en una Población Bogotana."</i></b>				
Fecha:	<table border="1" style="display: inline-table;"><tr><td>D</td><td>M</td><td>A</td></tr></table> .....	D	M	A
D	M	A		
Historia Clínica No.	_____			
Nombre del paciente:	_____			
Edad:	_____			
<p>Yo, _____ identificado con c.c. número _____ de _____ en calidad de paciente y/o responsable de _____, en pleno uso de mis facultades mentales e intelectuales, acepto participar en el proyecto de investigación desarrollado en el posgrado de Periodoncia de la Facultad de Odontología de la Universidad Nacional de Colombia denominado <i>"Identificación de Enterobacterias en Pacientes con Enfermedad Periimplantar en una Población Bogotana"</i> realizado por el estudiante de posgrado de Periodoncia Carlos Andrés Ramón Morales bajo supervisión de la Doctora María Claudia Castro Zárate y certifico que me han explicado de forma clara y adecuada lo siguiente:</p> <ol style="list-style-type: none"><li>1. Que el propósito del procedimiento es la toma de muestra del fondo de bolsas periimplantares y periodontales para el posterior cultivo de las enterobacterias que se logren encontrar.</li><li>2. El procedimiento requiere la inserción de una punta de papel en el fondo de la bolsa periimplantar y periodontal, de algunos sitios escogidos según conveniencia. Como complicaciones que pueden presentarse están: leve molestia, sangrado localizado, formación de abscesos periodontales. En caso de presentarse alguna de estas complicaciones, se suspenderá la recolección de muestras y se tomarán las medidas correspondientes para manejar y controlar el evento. En dado caso que ocurriera alguna complicación, se dará informe inmediato a _____ teléfono _____ parentesco _____ quien está actuando en calidad de acudiente.</li></ol> <p style="text-align: center;">Identificación de Enterobacterias en Pacientes con Enfermedad Periimplantar en una Población Bogotana</p>				

3. El procedimiento consiste en la eliminación de placa supragingival, toma de muestras con puntas de papel en el fondo del surco y cultivo de la misma en condiciones adecuadas en laboratorio.
4. Comprendo que el resultado de la primera muestra no sea el esperado; por lo cual puede ser necesario tomar una nueva muestra.
5. Libre, voluntaria y espontáneamente autorizo SI\_\_\_ NO\_\_\_ al estudiante Carlos Andrés Ramón Morales bajo supervisión de la Doctora Maria Claudia Castro Zárate (en calidad de docente del área de periodoncia la Universidad Nacional de Colombia) a la realización del procedimiento.
6. Reconozco que el equipo de salud pondrá todo su empeño, pericia, diligencia, conocimiento, prudencia, y cuidado para su correcta ejecución.
7. Expreso mi aprobación para participar de este estudio dado que he recibido toda la información necesaria de lo que incluirá el mismo y que tuve la oportunidad de formular todas las preguntas necesarias para mi entendimiento, las cuales fueron respondidas con claridad y profundidad, donde además se me explicaron los posibles riesgos que comprende el mismo.
8. Autorizo que mis exámenes de laboratorio, muestras, radiografías y fotografías puedan ser utilizadas con fines de enseñanza, investigación y/o divulgación científica, con la condición de que mis datos personales sean mantenidos en total reserva.
9. Dejo constancia que mi participación es voluntaria y que puedo tomar la libre decisión de no continuar participando en el estudio, en el momento en el cual lo considere necesario.

En constancia firman,

\_\_\_\_\_  
PACIENTE  
C.C No.

\_\_\_\_\_  
TESTIGO  
C.C No.


\_\_\_\_\_  
DIRECTORA DEL TRABAJO  
Reg..

\_\_\_\_\_  
ESTUDIANTE  
Reg.

**Estudiante Encargado: Carlos Andrés Ramón Morales**  
**Teléfono de Contacto: 321 435 8210**

Identificación de Enterobacterias en Pacientes con Enfermedad Periimplantar en una Población  
Bogotana

## ANEXO 3. Plegable informativo del estudio




### Bienvenido

Usted va a participar de un proyecto de investigación de la **Facultad de Odontología** de la **Universidad Nacional de Colombia**. En este folleto encontrará información acerca de la investigación. Cualquier inquietud extra, el estudiante encargado la podrá resolver.

### Muchas Gracias

por participar en este estudio y aportar un granito de arena a la Investigación en la **Universidad Nacional de Colombia**.



Cualquier inquietud será resuelta por quienes estamos realizando este estudio. A continuación encontrará los números y correos electrónicos de contacto.

**Dra. María Claudia Castro Zárate**  
[mccastroz@unal.edu.co](mailto:mccastroz@unal.edu.co)

**Carlos Andrés Ramón Morales**  
321 435 8210  
[caramonm@unal.edu.co](mailto:caramonm@unal.edu.co)

### Preguntas Frecuentes

**¿Mi nombre será revelado en algún momento en el estudio?**  
No, todo se llevará a cabo con total reserva.

**¿Tiene algún riesgo?**  
Este estudio está clasificado como de riesgo mínimo y las posibles complicaciones se presentan de manera localizada, como sangrado, dolor en el sitio de la toma de muestra y posible formación de un absceso periodontal.

**Si llego a tener alguna complicación durante el proceso de toma de muestra, ¿qué debo hacer?**  
Como primera medida será informar a los encargados del estudio y ponerlos en conocimiento de lo que ocurre. El proceso de toma de muestras será suspendido y se tomarán las medidas correspondientes para controlar el evento.

# Introducción

La base de este estudio es la **Enfermedad Perimplantar**, un término que usted habrá oído nombrar a su Odontólogo, pero ¿qué es?

La **Enfermedad Perimplantar** afecta principalmente a los tejidos que sostienen los implantes y es causada por el acúmulo de bacterias en las encías. Este proceso es lento y se va dando en 2 etapas, las cuales serán explicadas a continuación:

La primera etapa es la **Mucositis**, en la cual las bacterias están alrededor de la encía, generando una inflamación y sangrado de las mismas. Esto ocurre, cuando el cepillado y el uso de la seda dental no son adecuados. En este punto los daños son reversibles.



La segunda etapa es la **Periimplantitis**, en este punto ya se ven daños en los tejidos que sostienen al implante. En este caso, la encía empieza a separarse y retraerse, lo que es conocido como una Bolsa, en donde los alimentos y las bacterias tienen mas oportunidad de acumularse. El hueso y los demás tejidos de soporte están afectados de manera grave, lo que puede llevar a la pérdida del implante si no se controla.



## ¿En qué consiste el estudio?

Los **microorganismos** son los causantes principales de la **Enfermedad Perimplantar**, y se han descrito diferentes tipos, entre esos las bacterias entéricas (las que se encuentran en el sistema digestivo principalmente) por tal motivo, se tomarán muestras de las **bolsas** que usted presenta en sus encías alrededor del implante. Además se tomarán muestras de los dientes adyacentes al implante. La toma de las muestras se hará con conos de papel y posteriormente serán llevadas al laboratorio y en condiciones especiales serán puestas en medios de cultivo para que crezcan las bacterias. Esto se hace con el fin de conocer cuáles bacterias entéricas están involucradas en la **Enfermedad Perimplantar** en los pacientes de la **FOUN**, además para saber si las bacterias en los dientes son similares a las encontradas en el implante, lo cual ampliará el conocimiento acerca del rol de estas bacterias en la enfermedad.



## ANEXO 4. Periodontograma

[illegible]

Identificación de Enterobacterias en Pacientes con Enfermedad Perimplantar en una Población Bogotana

## ANEXO 5. Carta de Aprobación del Comité de Ética



UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA  
SEDE BOGOTÁ  
FACULTAD DE ODONTOLOGÍA  
CENTRO DE INVESTIGACIÓN Y EXTENSIÓN

CIE-060-15

Bogotá D.C., miércoles, 11 de marzo de 2015.

Doctora  
**LINA JANETH SUAREZ LONDOÑO**  
Coordinadora de Posgrados  
Facultad de Odontología  
Universidad Nacional de Colombia  
Sede Bogotá

Apreciada Doctora:

Cordialmente le informo que el Comité de Ética y Metodología en Investigación, de la Facultad de Odontología, en su sesión del lunes 09 de marzo de 2015, Acta 04-15, luego de revisar el proyecto titulado "IDENTIFICACIÓN Y COMPARACIÓN DE ENTEROBACTERIAS EN PACIENTES CON ENFERMEDAD PERIIMPLANTAR EN UNA POBLACIÓN BOGOTANA" que será realizado por el estudiante CARLOS ANDRES RAMÓN, dirigido por la profesora Dra. MARIA CLAUDIA CASTRO y Codirigido por la Dra. MAYE BERNAL RIVERA, emitió el concepto de **APROBADO**, dado que el proyecto cumple con todos los requerimientos éticos y metodológicos.

Cordialmente,

**MARTHA ESTHER HERRERA RUIZ**  
Directora Centro de Investigación y Extensión

C.C. Dra. MARIA CLAUDIA CASTRO, Coordinadora de Posgrados,  
Dra. MAYE BERNAL RIVERA, Codirectora del Proyecto,  
CARLOS ANDRES RAMON, Estudiante.

Carrera 30 No. 45-63, FACULTAD DE ODONTOLOGÍA, Edificio 210 Piso 3º, Oficina 311  
Teléfono: Ext. 13.316-5606, Coordinadora: Ext. 13.316-5000 Ext. 16011-16057  
Correo electrónico: [comiteetico@unad.edu.co](mailto:comiteetico@unad.edu.co)  
Bogotá, Colombia, Sur América